

CONTRIBUȚII LA SINTEZA ȘI STUDIUL UNOR COMPUȘI ANALOGI AI HIDRAȚILOR DE CARBON CU POTENȚIALĂ ACTIVITATE BIOLOGICĂ

Teză destinată obținerii
titlului științific de doctor
la

Universitatea "Politehnica" din Timișoara
în domeniul CHIMIE
de către

Ing. Cristian NEANU

Conducător științific:
Referenți științifici:

prof.univ.dr. Carol CSUNDERLIK
prof.univ.dr. Dan CIUBOTARIU
prof.univ.dr. Alfa Xenia LUPEA
prof.univ.dr. Vasile OSTAFE

Ziua susținerii tezei: 02.11.2007

Seriile Teze de doctorat ale UPT sunt:

- | | |
|------------------------|---|
| 1. Automatică | 7. Inginerie Electronică și Telecomunicații |
| 2. Chimie | 8. Inginerie Industrială |
| 3. Energetică | 9. Inginerie Mecanică |
| 4. Inginerie Chimică | 10. Știința Calculatoarelor |
| 5. Inginerie Civilă | 11. Știința și Ingineria Materialelor |
| 6. Inginerie Electrică | |

Universitatea „Politehnica” din Timișoara a inițiat seriile de mai sus în scopul diseminării expertizei, cunoștințelor și rezultatelor cercetărilor întreprinse în cadrul școlii doctorale a universității. Seriile conțin, potrivit H.B.Ex.S Nr. 14 / 14.07.2006, tezele de doctorat susținute în universitate începând cu 1 octombrie 2006.

Copyright © Editura Politehnica – Timișoara, 2007

Această publicație este supusă prevederilor legii dreptului de autor. Multiplicarea acestei publicații, în mod integral sau în parte, traducerea, tipărirea, reutilizarea ilustrațiilor, expunerea, radiodifuzarea, reproducerea pe microfilme sau în orice altă formă este permisă numai cu respectarea prevederilor Legii române a dreptului de autor în vigoare și permisiunea pentru utilizare obținută în scris din partea Universității „Politehnica” din Timișoara. Toate încălcările acestor drepturi vor fi penalizate potrivit Legii române a drepturilor de autor.

România, 300159 Timișoara, Bd. Republicii 9,
tel. 0256 403823, fax. 0256 403221
e-mail: editura@edipol.upt.ro

Prefață

Această teză de doctorat acoperă rezultatele cercetărilor efectuate de autor în perioada 2001-2006, activitatea experimentală din cadrul tezei fiind structurată în 2 părți principale:

Prima parte (Capitolul 2: „*Sinteza și investigarea unor inhibitori enzimatici glicozidici cu importanță în afecțiunile umane*”) a fost realizată într-un stagiu de doctorat Marie Curie în perioada 2003-2004 la Facultatea de Chimie a Universității Aarhus - DANEMARCA, în cadrul grupului de Chimie Bioorganică condus de Prof. Dr. Mikael Bols.

A 2-a parte experimentală a tezei (Capitolul 3: „*Sinteze de aminoalditol acetali ca intermediari în obținerea pseudoceramidelor*”) a fost realizată la Academia Română - Institutul de Chimie Timișoara, în cadrul grupului de Glicobiologie al Secției de Chimie Organică condus de Conf. Dr. Eugen Șișu, fiind realizată în cea mai mare parte în perioada 2001-2003.

Activitatea depusă în cadrul acestei teze de doctorat s-a concretizat printr-o serie de lucrări prezentate în cadrul unor manifestări științifice din țară și străinătate precum și prin articole publicate în reviste științifice, o listă a lor fiind atașată la finalul acestei teze. Dintre acestea 6 articole au fost publicate în reviste cotate ISI, 3 fiind pe tematica tezei iar 3 pe domenii conexe tezei de doctorat.

Rezultatele cercetărilor obținute în perioada petrecută în Danemarca în grupul Prof. Dr. Mikael Bols la Universitatea Aarhus nu au fost încă publicate, dreptul de publicare al rezultatelor aparținând Grupului de Chimie Bioorganică al Facultății de Chimie, Universitatea Aarhus - Danemarca.

Timișoara, August 2007

Cristian Neanu

Părinților și surorii mele

NEANU, Cristian

Contribuții la sinteza și studiul unor compuși analogi ai hidraților de carbon cu potențială activitate biologică

Teze de doctorat ale UPT, Seria 2, Nr. 3, Editura Politehnica, 2007, 172 pagini, 15 anexe, 102 figuri, 20 tabele.

ISSN: 1842-8444

ISBN: 978-973-625-519-9

Cuvinte cheie:

hidrați de carbon, glucozderivați, acetali, pseudoceramide, β -manozide, sinteză stereoselectivă, compuși cu activitate biologică.

Rezumat:

1. Recent, cercetătorii ce activează în domeniul chimiei hidraților de carbon și-au îndreptat atenția asupra felului în care poate fi utilizat controlul fin al reactivității în sintetiza mai facilă și mai selectivă a oligomerilor de hidrați de carbon utilizând efectele de tip "activat-dezactivat" („armed-disarmed”). Bols a demonstrat recent că grupele hidroxil axiale sunt mai puțin atrăgătoare de electroni decât grupele ecuatoriale. Aceasta indică faptul că stereochemia și conformația sunt proprietăți ce afectează în mod hotărâtor viteza de hidroliză a glicozidelor. Astfel, prin forțarea compusului aflat în mod uzual în conformația 4C_1 să adopte conformația 1C_4 viteza de hidroliză a unei glicozide poate fi crescută de 50-100 ori. Un efect similar fiind așteptat și în cazul donurilor de glicozil, rezultă că un donor de glicozil aflat în conformația inversată 1C_4 ar putea fi "activat conformațional" devenind astfel mai reactiv decât un donor de glicozil "activat" clasic. Obiectivul acestei prime părți a tezei a fost sinteza stereoselectivă a unui donor de glicozil "puternic activat" din punct de vedere conformațional, investigarea efectului conformației asupra reactivității și determinarea condițiilor optime pentru glicozilarea β -selectivă a compusului activat în vederea formării β -manozidei țintă. β -manozida sintetizată este un compus cu importanță biologică, fiind un potențial inhibitor enzimatic glicozidic cu importanță în afecțiunile umane.

2. Dezvoltarea de noi compuși superficial activi, biocompatibili și biodegradabili pe bază de materii prime naturale reprezintă un subiect de mare actualitate, derivații de aminoalditoli constituind în acest sens o categorie de substanțe care pot fi utilizate atât ca surfactanți cât și ca înlocuitori ai ceramidelor. Utilizarea aminoalditolilor, în particular a N-metil-glucozaminei ca aminoalcool, permite obținerea unui compus cu caracter amfipatic care să "mimeze" o ceramidă naturală prin atașarea enzimatică a resturilor de acizi grași prin reacții de esterificare sau transesterificare catalizate de lipaze. Monitorizarea elegantă a reacției enzimatrice se poate face prin HPLC sau GC, caz în care sunt necesari mono- și di-esterii N-acetil-N-metil-glucozaminei utilizați ca martori. Astfel, partea a 2-a a tezei este consacrată: 1. sintezei și purificării mono- și di-esterilor N-acetil-N-metil-glucozaminei; 2. studiului reacției de acetalare sub control cinetic și 3. analizei produșilor de reacție

Mulțumiri

Această teză de doctorat nu ar fi putut fi dusă la bun sfârșit fără ajutorul unui număr de persoane față de care autorul se simte profund îndatorat. Aș vrea pe această cale să-mi exprim gratitudinea față de domnul Prof. Dr. Carol Csunderlik pentru acceptarea mea ca doctorand al dumnealui și pentru suportul oferit de-a lungul acestor ani.

Aș dori de asemenea să-mi exprim întreaga recunoștință domnului Conf. Dr. Eugen Șisu sub îndrumarea căruia am făcut primii pași în cercetare și sub îndrumarea căruia m-am și format ca cercetător științific. De asemenea domnului Conf. Dr. Eugen Șisu vreau să-i mulțumesc și pentru entuziasmul și pasiunea ce ne-a insuflat-o tuturor celor din grupul său, precum și pentru disponibilitatea necondiționată pe care a avut-o întotdeauna de a fi la dispoziția mea cu experiența și cunoștințele dumnealui oferindu-mi întotdeauna răspunsuri la întrebările mele indiferent de problematica abordată.

Pentru șansa care mi-a oferit-o de a lucra ca doctorand sub supervizarea dumnealui într-un mediu extrem de competitiv și pentru oportunitatea de a face efectiv cercetare la cel mai înalt nivel îi sunt profund îndatorat Domnului Prof. Dr. Mikael Bols, profesor în cadrul facultății de Chimie a Universității Aarhus Danemarca.

N-aș putea să omit sprijinul pe care l-am avut din partea colegilor de laborator cu care am lucrat împreună de-a lungul acestor ani. D-nei chim. Ioana Șisu si drd. Anca Lascu aș dori să le mulțumesc în mod special pentru că în toți acești ani au fost alături de mine atât cu sfaturi cât și cu sprijin în toate activitățile din laborator ori de cate ori am avut nevoie. De asemenea mulțumirile mele se îndreaptă și către foștii mei colegi de laborator Cornelia Cocos, Ramona Radu, Ileana Scurtu sau către actuala colegă Carmen Codiță, cu care pentru o perioadă mai scurtă sau mai lungă de timp am împărțit atât bune cât și rele de-a lungul numeroaselor zile și ore de muncă petrecute în laborator.

În final dar nu în cele din urmă, aș dori să le mulțumesc părinților mei și surorii mele pentru sprijinul și suportul necondiționat de care am beneficiat din partea lor de-a lungul tuturor acestor ani.

Abrevieri și Acronime:

η	= randament
Δ	= temperatură
AcOEt	= acetat de etil
ACS	= acid camfor sulfonic
APTS	= acid <i>p</i> -toluen sulfonic
APT	= testul de proton atașat din spectroscopia ^{13}C -RMN
<i>aq.</i>	= soluție apoasă
Bn	= benzil (PhC)
Bz	= benzoil (PhCO)
<i>cat.</i>	= catalizator (cataliză)
CDCl_3	= cloroform deuterat
COSY	= spectroscopie RMN bidimensională de corelare homonucleară H-H
Cp	= ciclopentadienil
m-CPBA	= acid 3-cloroperoxibenzoic ($\text{C}_7\text{H}_5\text{ClO}_3$)
CSS (TLC)	= cromatografie în strat subțire
DCM	= diclormetan
DCM (dry)	= diclormetan distilat sub Ar (sau N_2)
4-DMAP	= 4-dimetilaminopiridină
DMCH	= 1,1-dimetoxi ciclohexan (dimetoxi ciclohexanonă)
DMF	= dimetil formamidă
DMTST	= dimetil (metil tio) sulfonium trifluoro metan sulfonat (24)
DMS	= dimetil sulf (Me_2S)
DTBMP	= 2,6-di- <i>tert</i> -butil-4 metil piridină (35)
E^+	= electrofil
Et	= etil
Et_3N	= trietil amină
EtOH	= etanol
<i>eq.</i>	= număr de echivalenți molari
FC	= cromatografie pe coloană (cromatografie „flash”)
Glc	= glucoză
HETCOR	= spectroscopie RMN bidimensională de corelare heteronucleară C-H
IDCP	= iod perclorat de dicolidină
<i>m-</i>	= <i>meta</i>

Me	= metil
MeCN	= acetonitril
MeOH	= metanol
MeOTf	= metil trifluoro metan sulfonat
MS	= spectrometrie de masă
MS-ESI (MS-ES ⁺)	= spectrometrie de masă cu ionizare prin electrospray
<i>n</i> -	= normal
NANMG	= N-acetil-N-metil-glucozamină
NIS	= N-iodosuccinimidă
NMG	= N-metil-glucozamină
<i>o</i> -	= <i>orto</i>
<i>p</i> -	= <i>para</i>
Pd(c)	= paladiu pe cărbune activ
Ph	= fenil
Pyr	= piridină
R	= orice grupă organică
R _f	= factor de retenție
¹ H-RMN	= rezonanță magnetică nucleară. Spectrul de proton
¹³ C-RMN	= rezonanță magnetică nucleară. Spectrul de carbon
Selectfluor [®]	= 1-cloro-metil-4-fluoro,1,4-diazonia biciclo [2,2,2] octan bis (tetra fluoro borat) (29)
TBDMS	= <i>t</i> -butil dimetil silil = (<i>t</i> -BuMe ₂ Si)
TBDMSOTf	= <i>t</i> -butil dimetil silil trifluoro metan sulfonat
TDM	= 4,4'- metilen bis-(N,N'- dimetil anilină)
TEA	= trietil amină
Tf	= trifluoro metan sulfonyl
TfOH	= acid trifluoro metan sulfonic (CF ₃ SO ₃ H) = (acid triflic)
Tf ₂ O	= anhidridă triflică (34)
TMSOTf	= tri-metil silil trifluoro metan sulfonat
THF	= tetra hidro furan
TLC (CSS)	= cromatografie în strat subțire
TMS	= tetra metil silan
Tol	= <i>p</i> -MePh = <i>p</i> -toluen
Tr	= tritil (Ph ₃ C)
Ts	= tosil = <i>p</i> -toluen sulfonyl
UV	= spectrometrie de ultraviolet
v/v	= raport de volume
X	= halogen

Lista Anexelor:

- Anexa 1 – ^1H -RMN penta acetil α -D-manoză (compusul **84**)
- Anexa 2 – ^1H -RMN *p*-metilfenil-2,3,4, 6-tetra-*O*-acetil-1-tio- α -D-manopiranozida (compusul **85**)
- Anexa 3 – ^1H -RMN *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6-tetra-*O*-tert- butildimetilsilil-1-tio - α -D-manopiranozida (compusul **87**)
- Anexa 4 – ^1H -RMN (**+60°C**) *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6-tetra-*O*-tert- butildimetilsilil- 1-tio- α -D-manopiranozida (compusul **87**)
- Anexa 5 – ^1H -RMN (**-20°C**) *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6-tetra-*O*-tert- butildimetilsilil- 1-tio- α -D-manopiranozida (compusul **87**)
- Anexa 6 – ^1H -RMN (**-50°C**) *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6-tetra-*O*-tert- butildimetilsilil- 1-tio- α -D-manopiranozida (compusul **87**)
- Anexa 7 – ^1H -RMN *n*-octanol manozidă (compusul **88**)
- Anexa 8 – ^1H -RMN sulfoxid tiomanozida (compusul **89**)
- Anexa 9 – ^1H -RMN di-ciclohexiliden acetali acetilați
- Anexa 10 – ^1H -RMN di-ciclohexiliden acetali acetilați (detaliu interval: 3.3-4.2 ppm)
- Anexa 11 – ^{13}C -RMN di-ciclohexiliden acetali acetilați (detaliu interval: 20-70 ppm)
- Anexa 12 – ^1H -RMN di-benziliden acetali acetilați
- Anexa 13 – ^{13}C -RMN Izopropiliden Acetali **spotul 1** din **Figura 3-12**
- Anexa 14 – ^1H -RMN Izopropiliden Acetali **spotul 3** din **Figura 3-12**
- Anexa 15 – ^{13}C -RMN Benziliden Acetali **spotul 2** din **Figura 3-16**

CUPRINS (pe scurt):

i. Prefață.....	3
ii. Mulțumiri	5
iv. Abrevieri și Acronime.....	7
v. Lista Anexelor	9
vi. Cuprins detaliat.....	12
 CAPITOLUL 1: Chimia Hidraților de Carbon	 15
1.4 Cum contribuie această teză la cercetările din cadrul chimiei hidraților de carbon	19
 CAPITOLUL 2: Sinteza și Investigarea unor Inhibitori Enzimatici Glicozidici cu Importanță în Afecțiunile Umane	 23
2.1. Stadiul Cunoașterii	23
2.2. Contribuții originale. Donori de glicozil " <i>activați conformațional</i> ". Efectul conformației în reactivitatea glicozidelor:	38
2.2.1. Introducere.....	38
2.2.2. Obiective	40
2.2.3. Rezultate și discuții	41
2.3. Concluzii 1 (<i>Inhibitori de Glicozidaze</i>)	56
2.4. Experimental (Mod de lucru și Proceduri)	57
2.5. Bibliografie	69
 CAPITOLUL 3: Sinteze de Aminoalditol Acetali ca Intermediari în Obținerea Pseudoceramidelor	 77
3.1. Stadiul Cunoașterii. Strategii cu grupe protectoare	77
3.2. Contribuții Originale. Aminoalditol acetali ca intermediari în obținerea pseudoceramidelor.....	83
3.2.1. Introducere	83
3.2.2. Obiective	84
3.2.3. Rezultate și discuții.....	84
3.3. Concluzii 2 (<i>Aminoalditoli Acetali</i>)	108
3.4. Experimental (Mod de lucru și Proceduri)	109
3.5. Bibliografie	148
 CAPITOLUL 4: Concluzii Generale	 151
 Lista Publicațiilor	 153
Anexe	158

CUPRINS (detaliat):

i. Prefață	3
iii. Mulțumiri	5
iv. Abrevieri și Acronime	7
v. Lista Anexelor	9
vi. Cuprinsul pe scurt	11
 CAPITOLUL 1: Chimia Hidraților de Carbon	 15
1.1. Introducere	15
1.2. Uriașa micro-lume a hidraților de carbon.....	15
1.3. Terapii bazate pe hidrați de carbon	17
1.4. Cum contribuie această teză la cercetările din cadrul chimiei hidraților de carbon	19
1.5. Bibliografie	19
 CAPITOLUL 2: Sinteza și Investigarea unor Inhibitori Enzimatici Glicozidici cu Importanță în afecțiunile umane	 23
2.1. Stadiul Cunoașterii.....	23
2.1.1. Inhibitorii de glicozidaze	23
2.1.1.1. <i>Argumente Biologice</i>	23
2.1.2. Concepte Generale în Sinteza de Oligozaharide	24
2.1.2.1. <i>Introducere</i>	24
2.1.2.2. <i>Concepte generale în sinteza de oligozaharide</i>	24
2.1.3. Metode de glicozilare.....	26
2.1.3.1. <i>Introducere</i>	26
2.1.3.2. <i>Glicozilarea cu Tioglicozide (obținerea și activarea lor)</i>	28
2.1.3.3. <i>Glicozilarea cu Sulfoxizi și cu Sulfone (obținerea și activarea lor)</i>	31
2.1.4. Stereoselectivitatea în reacțiile de glicozilare cu sulfoxizi	33
2.1.4.1. <i>Stereoselectivitatea</i>	33
2.1.4.2. <i>Considerații privind formarea β-manopiranozidelor</i>	34

2.1.5. Conceptul „activat-dezactivat” (<i>armed-disarmed</i>) în reacțiile de glicozilare ..	34
2.1.5.1. Glicozilarea de tip „activat-dezactivat”	35
2.2. Contributii originale. Donori de glicozil “activați conformațional”. Efectul conformației în reactivitatea glicozidelor:	38
2.2.1. Introducere.....	38
2.2.2. Obiective	40
2.2.3. Rezultate și discuții: Sinteza și investigarea unor inhibitori enzimatici glicozidici cu importanță în afecțiunile umane	41
2.2.3.1. Sinteza donorului de glicozil.....	43
2.2.3.2. Inversia de conformație	44
2.2.3.3. Studii privind capacitatea de glicozilare	48
2.2.3.4. Sinteza β -manopiranozidei țintă	55
2.3. Concluzii 1 (Inhibitori de glicozidaze).....	56
2.4. Experimental (Mod de lucru și Proceduri)	57
Sinteza penta acetil α -D-manozei	57
Sinteza p-metilfenil 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- α -D-manopiranozidei.....	58
Sinteza p-metilfenil 2,3,4,6-tetra-hidroxi-1-tio- α -D-manopiranozidei	59
Sinteza p-metilfenil 2,3,4,6-tetra-O-TBDMS-1-tio- α -D-manopiranozidei	59
Cuplarea tiomanozidei cu n-octanol	61
Sinteza DMTST	66
Oxidarea tiomanozidei la sulfoxid	67
Cuplare sulfoxid cu n-octanol.....	67
Sinteza β -manopiranozidei țintă	68
2.5. Bibliografie	69

CAPITOLUL 3: Sinteze de Aminoalditol Acetali ca Intermediari în Obținerea Pseudoceramidelor

3.1. Stadiul Cunoașterii. Strategii cu grupe protectoare	77
3.1.1. Considerații privind grupele protectoare și rolul lor în chimia hidraților de carbon	77
3.1.2. Grupe Protectoare pentru –OH.....	77
3.1.2.1. Grupe Protectoare Permanente	78
3.1.2.2 Grupe Protectoare Temporare.....	80
3.2. Contribuții Originale. Aminoalditol acetali ca intermediari în obținerea pseudoceramidelor	83

	14
3.2.1. Introducere.....	83
3.2.2. Obiective	84
3.2.3. Rezultate și discuții	84
3.2.3.A. Sinteza mono și diesterilor N-Acetil-N-Metil-Glucozaminei.....	94
3.2.3.B. Investigații privind simplificarea spectrelor ¹ H-RMN	100
3.3. Concluzii 2 (Aminoalditol Acetali)	108
3.4. Experimental (Mod de lucru și Proceduri)	110
Obținerea Benziliden Acetalilor NANMG	110
Obținerea Ciclohexiliden Acetalilor NANMG	116
Obținerea Izopropiliden Acetalilor NANMG	122
Sinteza dimetoxi-ciclohexanonei	128
Obținerea N-metil-N-acetil-glucozaminei acetilate	129
Obținerea NANMG 5,6-benziliden-monoacetalului triacetilat	129
Obținerea NANMG benziliden-diacetalilor monoacetați	130
Obținerea NANMG 5,6-ciclohexiliden-monoacetalului triacetilat.....	132
Obținerea NANMG ciclohexiliden-diacetalilor monoacetați	133
Obținerea NANMG 5,6-izopropiliden monoacetalului triacetilat.....	134
Obținerea NANMG izopropiliden-diacetalilor monoacetați.....	136
Obținerea NMG prin N-deacetilarea N-acetil-N-metil-glucozaminei	137
Deprotejarea diaceton glucozei și dicitlohexiliden glucozei cu H ₂ N-NH ₂	137
Obținerea NMG di-ciclohexiliden acetalilor	138
Obținerea NMG 5,6-mono-ciclohexiliden acetalului.....	142
Obținerea NMG 5,6-mono-izopropiliden acetalului	143
Obținerea NMG tosilat	144
Obținerea NMG 5,6-mono-ciclohexiliden acetalului tosilat	145
Obținerea NMG di-ciclohexiliden acetalului tosilat	146
Obținerea NMG 5,6-mono-izopropiliden acetalului tosilat	147
3.5. Bibliografie	148
CAPITOLUL 4: Concluzii Generale	151
Lista Publicațiilor	153
Anexe	158

CAPITOLUL 1:

CHIMIA HIDRAȚILOR DE CARBON

1.1. Introducere

Provenind din cuvântul latin „*saccharum*” pentru zahăr, care el însuși provine din cuvântul sanscrit „*sarkhara*”, hidrații de carbon (numiți și zaharuri sau carbohidrați) sunt molecule alcătuite din C, H și O. Ei sunt abundenți în natură, constituind o parte importantă din hrana noastră zilnică și servesc în special ca rezerve de energie, cum ar fi de exemplu amidonul în plante și glicogenul la animale. Hidrații de carbon sunt și componente structurale: celuloza la plante, peptidoglicanii în bacterii și chitina în exoscheletul artropodelor. Ei servesc de asemenea ca lubrifianți și susținători ai fibrelor și elementelor celulare ale țesuturilor. Hidrații de carbon specifici servesc drept semnale de recunoaștere ai suprafeței celulare pentru anticorpi, hormoni, toxine. O serie de derivați ai carbohidraților simpli, sunt părți componente ale coenzimelor, fiind elemente cheie în metabolismul celular.

Într-un anume sens, acizii nucleici sunt de asemenea derivați ai hidraților de carbon deoarece scheletul lor este compus din dezoxiriboză în ADN și riboză în ARN concatenate prin punți fosfodiesterice. Pe lângă aceste funcții din natură, hidrații de carbon au o serie de aplicații industriale, de exemplu: amidonul în produsele de panificație și paste, gumele în fabricarea alimentelor, mono- și oligozaharidele ca îndulcitori, celuloza în industria hârtiei, ca materii prime fermentative în fabricarea băuturilor alcoolice, cât și în industria farmaceutică unde sunt precursori ai unor medicamente: antibiotice, anticoagulanți, vitamina C, etc. [1].

1.2. Uriașa Micro-Lume a Hidraților Carbon

Hidrații de carbon aparțin împreună cu peptidele, lipidele și acizii nucleici clasei de compuși cunoscute ca biomolecule.

Mai mult de jumătate din tot carbonul din biosferă este component de bază al celulozei, moleculă polimerică din clasa carbohidraților ce se găsește peste tot în jurul nostru și este parte a vieții noastre de zi cu zi. Produse ca lemnul, hârtia și bumbacul sunt toate aproape celuloză pură. [2]

Amidonul este de asemenea un carbohidrat. El este un polimer asemanator celulozei fiind folosit de plante ca rezervă energetică, fiind de asemenea important pentru oameni datorită valorii sale nutriționale. Produse ca făina și cartofii au un conținut

ridicat de amidon. Când este utilizat ca hrană, amidonul este retransformat într-o altă polizaharidă izomeră, numită glicogen. Acest compus este folosit ca și sursă primară de stocare a energiei de către toate animalele. Când este nevoie de energie, glicogenul este scindat în unitățile sale monomere, glucoza (**1**) fiind sursa preferată de energie a celulelor.

Cu toate că natura a ales să construiască cei mai mulți dintre hidrații de carbon folosind doar monomerul de glucoză, celelalte monozaharide sunt departe de a fi rare. Galactoză și fructoză sunt împreună cu glucoza componente ale unor dizaharide foarte cunoscute cum ar fi lactoza (**2**, zahărul din lapte) și zaharoza (**3**, zahărul alimentar) (**Figura 1-1**). Riboza, o pentoză funcționalizată cu un rest fosfat și o bază heteroaromatică este unitatea repetitivă din ARN (**4**), în timp ce 2-deoxiriboza este componentă a ADN-ului. [2]

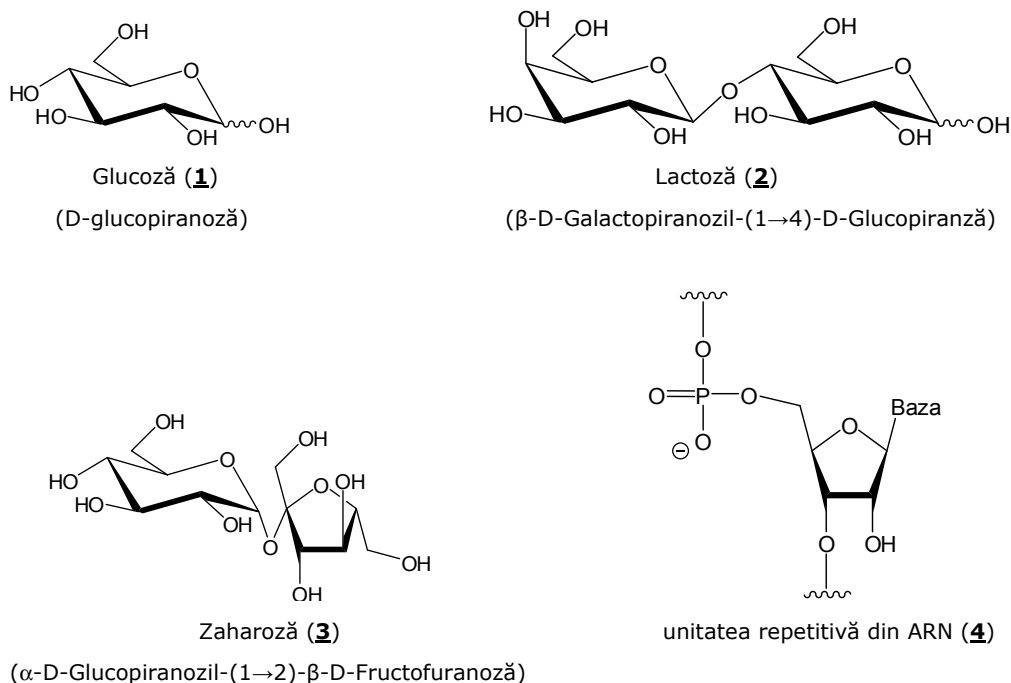


Figura 1-1. Exemple de hidrați de carbon

De-a lungul ultimelor 2 decenii a devenit din ce în ce mai evident că zaharurile nu joacă doar un rol de compuși ce stochează energia sau de molecule componente ale unor macrostructuri. Datorită multiplelor posibilități prin care unitățile de monozaharide se pot concatena, oligozaharidele au și potențialul de a purta informația biologică. [3, 4]

Atașați de proteine (în glicoproteine și proteoglicani) și lipide (în glicolipide și lipopolizaharide), hidrații de carbon se găsesc în toate celulele vii sub formă de *glicoconjugate* [1]. Aceste glicoconjugate se găsesc la suprafața membranelor celulare și funcționează ca și situsuri de recunoaștere pentru o mare diversitate de

proteine cu diferite funcții. [2, 5, 6]. Recunoașterea unui carbohidrat de pe suprafața ovulului unui mamifer de către o proteină din celula spermei înainte de fertilizare este un exemplu elocvent din lunga listă a rolurilor remarcabile jucate de hidrații de carbon [2, 7].

1.3. Terapii bazate pe hidrați de carbon

Datorită nenumăratelor evenimente fiziologice importante în care sunt implicate glicoconjugatele în general și oligozaharidele în particular, interesul asupra terapiilor bazate pe hidrații de carbon este în continuă creștere [6, 8, 9].

Toate cercetările ultimilor 20 de ani au dus la descoperirea a numeroase roluri biologice pentru hidrații de carbon, de la funcțiile simple precum stocarea de energie până la cele mai complexe procese precum cele cu rol în aderența intercelulară, transferul semnalelor, transformările maligne și recunoașterea virală și bacteriană de la suprafața celulară [10-15].

Odată cu apariția de noi ținte și oportunități în descoperirea medicamentelor bazate pe carbohidrați, imensul potențial farmaceutic al acestora începe și el să fie exploatat din ce în ce mai mult de către industria farmaceutică [1].

Spre exemplu aplicațiile potențiale ale carbohidraților în lărgirea ariei de medicamente pornesc de la tratamentul diabetului, infecțiilor virale și bolilor inflamatorii până la exploatarea potențialului terapeutic în cazul trombozei [16-19], infecțiilor bacteriene [20-25] și vaccinurilor anticancer.

Astfel, datorită diversității lor stereochemice, hidrații de carbon constituie sintoni valoroși în sinteza de noi medicamente, ei fiind utilizați și ca schelete chirale în chimia combinatorială, diferitele aplicații de acest tip fiind recent și recenzate [28, 29].

Dintre medicamentele bine cunoscute și existente deja pe piață, antibioticul Vancomicina (o glicopeptidă) s-a impus ca fiind antibioticul de „ultimă soluție” [30]. În familia medicamentelor bazate pe hidrații de carbon și care sunt familiare multora dintre noi se găsesc de asemenea heparina (anticoagulant polizaharidic) [9] precum și hormonul glicoproteic eritropoietina (EPO) ce este folosit în tratamentul anemiei. În ceea ce privește activitatea sa biologică, glicozilarea corectă s-a dovedit a fi esențială în procesul de producere a eritropoietinei (EPO) [8].

În prezent sunt cercetate terapii bazate pe hidrații de carbon ce au ca țintă boli ca malaria [31], hepatita și ulcerul [8]. O mare atenție este acordată de asemenea antigenului oligozaharidic Globo-H de pe suprafața unor celule canceroase. Anticorpii monoclonali direcți împotriva conjugatului Globo-H sintetic, au arătat că aceștia reacționează cu hidrații de carbon de pe suprafața celulară a celulelor canceroase. [32, 33].

Pe de altă parte în anii 1990 s-au făcut mari eforturi pentru a se obține și dezvolta un medicament anti-gripal. În prezent există pe piață 2 compuși, ambii mimetici ai acidului sialic (**5**), ei fiind patentati ca: Relenza® (Zanamivir, **6**) [34, 35] și Tamiflu® (Oseltamivir, **7**) [36]. (**Figura 1-2**). Atât Zanamivirul cât și Oseltamivirul sunt biologici activi datorită abilității lor de a inhiba anumite enzime ce procesează carbohidrați.

Natura furnizează hidrați de carbon precum acarboza și 1-deoxinojirimicina (**9**), ce au atras un interes considerabil asupra lor datorită activității lor biologice și a potențialului lor de a fi utilizați în tratamente medicale (**Figura 1-2**). 1-Deoxinojirimicina (**9**) a arătat o slabă activitate *in vitro* și-n consecință s-a sintetizat un nou derivat obținut prin alchilarea atomului de N endociclic [37]. Produsul acestei reacții, miglitolul (**10**) [38] este deja apărut pe piață și împreună cu acarboza [39] este destinat tratării formelor de diabet non-insulin dependente. Ambii acționează ca inhibitori intestinali ai α -glicozidazei, realizându-se prin aceasta controlul concentrației glucozei circulante.

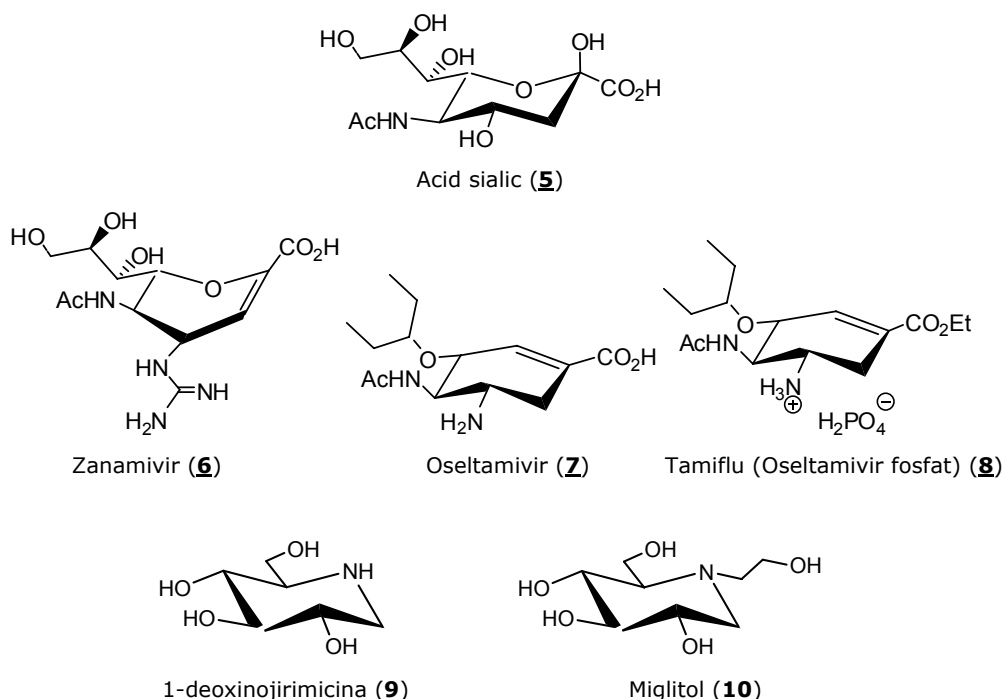


Figura 1-2. Acidul sialic și câteva exemple de azazaharuri cu activitate biologică

Lista compușilor terapeutici de pe piață sau care sunt sub investigație crește în continuu iar în următorii ani vor fi și mai mulți, pe măsură ce procesele biochimice în care sunt implicați carbohidrații atrag tot mai mult atenția asupra lor [6, 40]. Automatizarea sintezei de oligozaharide va fi din acest punct de vedere un instrument indispensabil în căutarea de potențiali noi candidați pentru medicamente. [41, 42]

1.4. Cum contribuie această teză la cercetările din cadrul chimiei hidraților de carbon

Această teză este structurată în 3 mari capitole. **Capitolul 1** este o introducere generală în domeniul chimiei hidraților de carbon. O prezentare succintă a rolului acestora în natură și în organismele biologice este urmată de o trecere în revistă a aplicațiilor acestora în industria farmaceutică ca și compuși cu rol terapeutic, pentru ca în final să se precizeze rolul lor în dezvoltarea de noi medicamente.

Capitolul 2 este dedicat sintezei și investigării unor potențiali inhibitori enzimatici glicozidici cu importanță în afecțiunile umane, în particular sintezei stereoselective a unei β -manozide (compusul **82**, **Figura 2-20**), compus de importanță biologică dificil de sintetizat.

Capitolul este structurat în subcapitole ce descriu aspectele teoretice privind formarea β -manozidelor (cap. 2.1.4) precum și conceptele generale în sinteza de oligozaharide (cap. 2.1.2). Sunt de asemenea prezentate câteva considerații privind inhibitorii de glicozidaze (cap. 2.1.1) și metodele de glicozilare cu tioglicozide (cap. 2.1.3.2) și sulfoxizi (cap. 2.1.3.3). În final urmează contribuțiile originale (cap. 2.2), concluziile (cap. 2.3) și partea experimentală (cap. 2.4)

Capitolul 3 este consacrat sintezei și investigării mono- și diesterilor N-acetil-N-metil-glucozaminei (compuși ce urmează a fi utilizați ca martori în monitorizarea reacției enzimatic de obținere a pseudoceramidelor), precum și studiului reacțiilor de acetalare sub control cinetic [43-45]

Capitolul este structurat în subcapitole ce abordează la început câteva aspecte teoretice privind grupele protectoare și rolul lor în chimia carbohidraților (cap. 3.1.1) cu o particularizare privind grupele protectoare acetalice (cap. 3.1.2), fiind urmate apoi de contribuțiile originale (cap. 3.2), concluzii (cap. 3.3) și partea experimentală (cap. 3.4)

1.5. Bibliografie

- [1] Daniel E. Levy, Péter Fugedi, *The Organic Chemistry of Sugars*, CRC, Taylor & Francis Group LLC, **2006**
- [2] D. Voet, J. G. Voet, C. W. Pratt, *Fundamentals of Biochemistry*, John Wiley & Sons, Inc. New York, **1999**
- [3] K. Schmidt, *New Scientist*, **2002**, 2366, 34-38.
- [4] A. Dove, *Nat. Biotechnol.* **2001**, 19, 913-917.
- [5] J. Alper, *Science*, **2001**, 291, 2338-2345.
- [6] M. Fukuda, O. Hindsgaul (Ed.) *Molecular and Cellular Glycobiology*, Oxford University Press, **2000**.
- [7] B. Nixon, Q. Lu, M. J. Wassler, C. I. Foote, M. A. Ensslin, B. D. Shur, *Cells Tissues Organs*, **2001**, 168, 46-57

- [8] K. M. Koeller, C.-H. Wong, *Nat. Biotechnol.* **2000**, 18, 835-841.
- [9] T. Maeder, *Sci. Am.* **2002**, 287, 1, 24-31.
- [10] Alper, J, *Science*, 291, 2338 – 2343, **2001**
- [11] McAuliffe, J C, Hindsgaul, O, *Chem. Ind.*, 170 – 174, **1997**;
- [12] Hounsell, E F, *Carbohydr. Res.*, 300, 47 – 48, **1997**;
- [13] Nagai, Y, *Pure Appl. Chem.*, 69, 1893 – 1896, **1997**;
- [14] Dwek, R A, *Chem. Rev.*, 96, 683 – 720, **1996**;
- [15] Simon, P M, *Drug Discov. Today*, 1, 522 – 528, **1996**.
- [16] Petitou, M, Herbert, J-M, *A new generation of antithrombotics based on synthetic oligosaccharides, în Carbohydrate-Based Drug Discovery*, Wong, C-H, Ed., Wiley-VCH, Weinheim, pp. 441 – 460, **2003**.
- [17] Petitou, M, Casu, B, Lindahl, U, *Biochemie.*, 85, 83 – 89, **2003**;
- [18] Petitou, M, van Boeckel, C A A, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43, 3118 – 3133, **2004**;
- [19] Petitou, M, Duchaussoy, P, Herbert, J-M, Duc, G, El Hajji, M, Branellec, J-F, Donat, F, Necciari, J, Cariou, R, Bouthier, J, Garrigou, E, *Semin. Thromb. Hemost.*, 28, 393 – 402, **2002**.
- [20] Williams, D H, Bardsley, B, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38, 1172 – 1193, **1999**;
- [21] Kaplan, J, Korty, B D, Axelsen, P H, Loll, P J, *J. Med. Chem.*, 44, 1837 – 1840, **2001**;
- [22] Nicolaou, K C, Boddy, C N C, Brase, S, Winssinger, N, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38, 2096 – 2152, **1999**;
- [23] Ferrier, R J, Blattner, R, Field, R A, Furneaux, R H, Gardiner, J M, Hoberg, J, Kartha, K P R, Tilbrook, D M G, Tyler, P C, Wightmen, R H, *Carbohydr. Chem.*, 33, 257 – 274, **2002**;
- [24] Dworkin, R J, *Drug Resist Update*, 2, 173 – 179, **1999**
- [25] Zembower, T R, Noskin, G A, Postelnick, M J, Nguyen, C, Peterson, L R, *Int. J. Antimicrob. Agents*, 10, 95 – 105, **1998**.
- [26] Danishefsky, S J, Allen, J R, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 39, 836 – 863, **2000**;
- [27] Koganty, R R, Reddish, M A, Longenecker, B M, *Drug Discov. Today*, 1, 190 – 198, **1996**.
- [28] Gruner, S A W, Locardi, E, Lohof, E, Kessler, H, *Chem. Rev.*, 102, 491 – 514, **2002**;
- [29] Schweizer, F, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 41, 230 – 253, **2002**.
- [30] D. H. Williams, B. Bardsley, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1172-1193
- [31] L. Schofield, M. C. Hewitt, K. Evans, M.-A. Siomos, P. Seeberger, *Nature*, **2002**, 418, 785-789.

- [32] T. Gilewski, G. Ragupathi, S. Bhuta, L. J. Williams, C. Musselli, X.-F. Zhang, K. P. Bencsath, K. S. Panageas, J. Chin, C. A. Hudis, L. Norton, A. N. Houghton, P. O. Livingston, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2001**, 98, 3270-3275.
- [33] G. Ragupathi, D. M. Coltart, L. J. Williams, F. Koide, E. Kagan, J. Allen, C. Harris, P. W. Glunz, P. O. Livingston, S. J. Danishefsky, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2002**, 99, 13699-13704.
- [34] M. v. Itzstein, W.-Y. Wu, G. B. Kok, M. S. Pegg, J. C. Dyason, B. Jin, T. V. Phan, M. L. Smythe, H. F. White, S. W. Oliver, P. M. Colman, J. N. Varghese, D. M. Ryan, J. M. Woods, R. C. Bethell, V. J. Hotham, J. M. Cameron, C. R. Penn, *Nature*, **1993**, 363, 418-423.
- [35] F. G. Hayden, J. J. Treanor, R. F. Betts, M. Lobo, J. D. Esinhart, E. K. Hussey, *J. Am. Med. Assoc.* **1996**, 275, 295-299.
- [36] C. U. Kim, W. Lew, M. A. Williams, H. Liu, L. Zhang, S. Swaminathan, N. Bischofberger, M. S. Chen, D. B. Mendel, C. Y. Tai, W. G. Laver, R. C. Stevens, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 681-690.
- [37] N. Asano, R. J. Nash, R. J. Molyneux, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, 11, 1645-1680.
- [38] P. J. Kingma, P. P. Menheere, J. P. Sels, A. C. Nieuwenhuijzen Kruseman, *Diabetes Care*, **1992**, 15, 478-483.
- [39] J. A. Balfour, D. McTavish, *Drugs*, **1993**, 46, 1025-1054.
- [40] Henrik Helligsø Jensen, „Azasugars. Their Synthesis, Glycosidase Inhibitory Activity, and Substituent Constants“, Ph.D. dissertation, Department of Chemistry, University of Aarhus, **2003**
- [41] Z. Zhang, I. R. Ollmann, X.-S. Ye, R. Wischnat, T. Baasov, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 734-753.
- [42] O. J. Plante, E. R. Palmacci, P. H. Seeberger, *Science*, **2001**, 291, 1523-1527.
- [43] E. Şişu, C. Neanu, M. Căproiu, Ioana Şişu, Anca Lascu, F. Peter, V. Rusu, C. Csunderlik, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53, (11), **2002**, 750-754
- [44] E. Şişu, C. Neanu, M. Căproiu, Ioana Şişu, Anca Lascu, F. Peter, V. Rusu, C. Csunderlik, *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53, (12), **2002**, 815-818
- [45] C. Neanu, Anca Lascu, C. Csunderlik, *Rev. Roum. Chim.*, **2007**, 52 (8-9) (omagial V. Sahini)

CAPITOLUL 2:

SINTEZA ȘI INVESTIGAREA UNOR INHIBITORI ENZIMATICI GLICOZIDICI CU IMPORTANȚĂ ÎN AFECȚIUNILE UMANE

2.1. Stadiul Cunoașterii

2.1.1. Inhibitorii de glicozidaze

2.1.1.1. Argumente Biologice

Biosinteza glicoproteinelor și glicolipidelor membranare are loc în reticulul endoplasmatic (ER) și în aparatul Golgi. Acest proces este mijlocit de glicoziltransferaze ce catalizează glicozilarea acceptorului la poziția specifică, folosind ca donori de glicozil monozaharide activate. Transformarea inversă (ca de ex. scindarea hidrolitică a legăturilor glicozidice) este catalizată de glicozidaze. Aceste enzime de importanță biologică au fost în detaliu investigate în ultima decadă [1-5] fiind foarte bine cunoscute și înțelese astăzi.

Inhibitorii de glicozidaze (compuși ce inhibă enzimele care procesează hidrați de carbon) au o valoare terapeutică considerabilă. Inhibitori ai α -glicozidazei intestinale sunt utilizați în tratamentul a 2 tipuri de diabet ei blocând hidroliza oligozaharidelor și absorbția glucozei [6]. Inhibitorii de α -glicozidaze se pot de asemenea dovedi utili în tratamentul HIV [7], bolii Gaucher, hepatitei și cancerului [8].

Începând cu anii 1960 au fost găsiți numeroși inhibitori de glicozidaze în plante sau microorganisme. Aceste descoperiri au stimulat cercetarea privind sinteza acestor compuși naturali și a analogilor lor, conducând la dezvoltarea de noi tipuri de inhibitori sintetici foarte eficienți, în ultimii ani fiind publicate numeroase recenzii pe acest subiect [9-11].

Dintre inhibitorii sintetici, un interes deosebit îl prezintă acei inhibitori enzimatici derivați ai hidraților de carbon, în ultimii ani interesul în dezvoltarea de asemenea compuși fiind în continuă creștere. Deși există și numeroase monozaharide cu rol de inhibitori, în general hidrații de carbon ce acționează în astfel de procese biologice au structuri oligozaharidice. Se poate spune astfel că la fel ca și în domeniul acizilor nucleici și al peptidelor, sinteza oligozaharidelor este un instrument important în înțelegerea și studierea biochimiei și biologiei proceselor

vitale În următoarele subcapitole sunt prezentate conceptele generale și metodele de sinteză a oligozaharidelor.

2.1.2. Concepte Generale în Sinteza de Oligozaharide

2.1.2.1. Introducere:

Glicoconjugatele (glicoproteine, glicolipide și proteoglicani) joacă un rol esențial într-o mare varietate de procese biologice, incluzând fertilizarea, embriogeneza, proliferarea celulară și aderența celulară [12, 13]. Diferite stadii ale bolilor sunt de asemenea asociate unor modificări în structura carbohidraților.

În comparație cu alți oligomeri naturali, precum peptidele și oligonucleotidele, oligozaharidele au o diversitate structurală mai mare. Pe lângă numărul de monomeri, diversitatea foarte mare a oligozaharidelor este dată în mare măsură și de diferențele în configurația anomerică, de mărimea inelului și în special de diferitele puncte de legare posibile ale monomerilor (incluzând aici și structurile ramificate). De exemplu, în timp ce din 3 aminoacizi diferiți pot fi formate doar 6 tripeptide, din 3 monohexazaharide diferite pot fi teoretic formate 1056 trizaharide, luând în considerare doar forma piranozică a acestora [14].

Ca rezultat al complexității mult mai mari a structurilor, nu este deloc surprinzător că sinteza de oligozaharide este mai dificilă decât a peptidelor sau nucleotidelor. În timp ce în sinteza de oligozaharide, mărimea inelului, poziția legăturii și stereoselectivitatea anomerică trebuie să fie strict controlate, în sinteza de peptide de exemplu, nu există astfel de cerințe. Prin urmare, astăzi sinteza de peptide și de oligonucleotide este ușor realizată prin tehnici automatizate, în timp ce pentru sinteza de oligozaharide astfel de tehnici de sinteză nu sunt încă aplicabile. Cu toate acestea până acum a fost sintetizat un număr foarte mare de oligozaharide, multe cu structuri foarte complexe, unele cu mai mult de 20 unități zaharidice [15].

2.1.2.2. Concepte generale în sinteza de oligozaharide:

Așa cum s-a menționat în introducere, secvența, mărimea ciclului monozaharidelor, poziția de legare și stereochimia anomerică sunt aspectele ce trebuie controlate în sinteza de oligozaharide. Secvența unităților monozaharidice poate fi controlată prin înzestrarea componentelor de cuplare cu calitatea de: donor de glicozil sau acceptor de glicozil [16], donorul fiind atașat prin intermediul hidroxilului său anomer la una din grupele OH alcoolice ale acceptorului. Dimensiunile corecte ale ciclurilor sunt garantate prin utilizarea acelor derivați protejați ce au dimensiunea ciclului necesară. Controlul stereochimiei la centrul anomer poate fi obținut prin: alegerea metodelor de glicozilare, a grupelor protectoare și a condițiilor de reacție.

Acest concept este ilustrat de una din primele sinteze de oligozaharide realizate, și anume sinteza dizaharidei gentobioză (β -D-Glc-*p*-(1→6)-D-Glc) realizată de către Helferich [17] (Glc=*glucoză*) (**Figura 2-1**). Sinteza se constituie

din următoarele etape: prepararea donorului de glicozil, prepararea acceptorului parțial protejat, cuplarea donorului de glicozil cu acceptorul și deproteizarea produsului de cuplare rezultat.

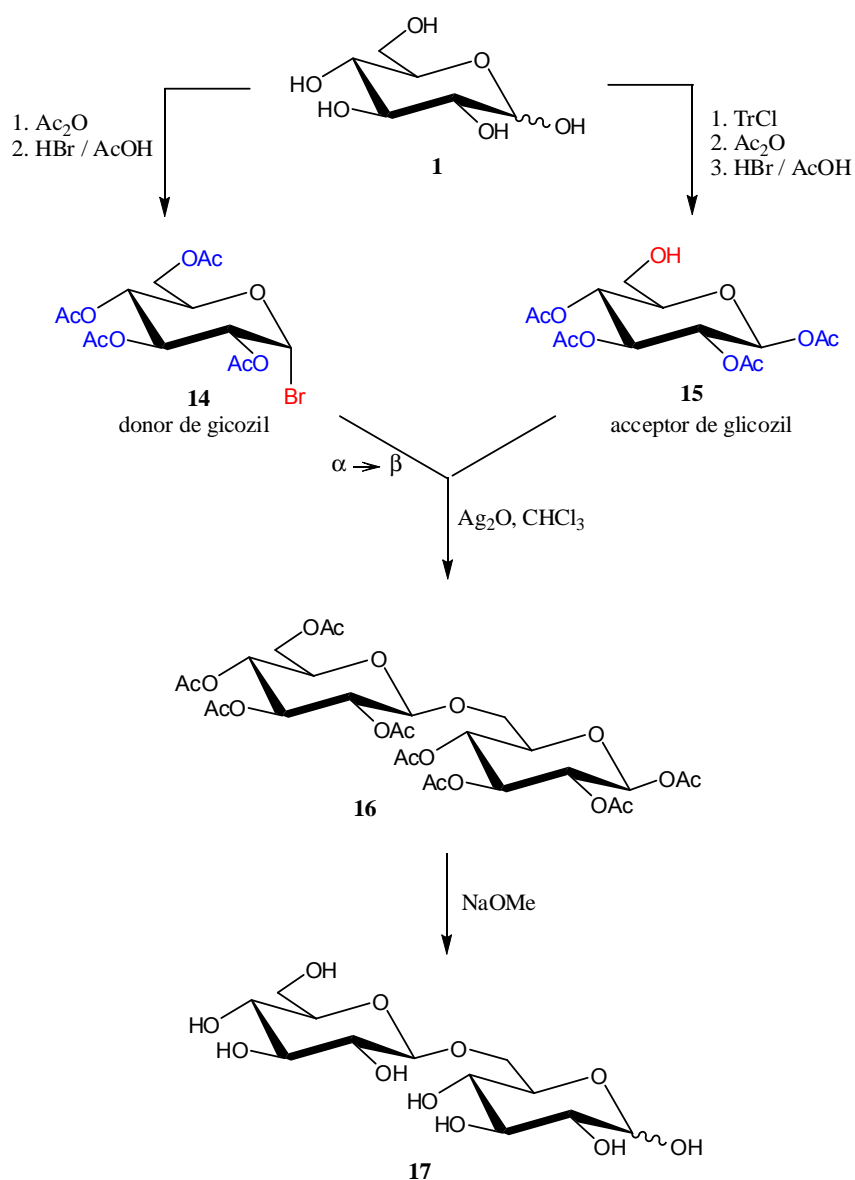


Figura 2-1. Sinteza gentobiozei

Așa cum este ilustrat în **Figura 2-1**, donorul de glicozil, acetobromoglucosa (**14**), este ușor obținută din D-glucoză (**1**) prin acetilare, urmată

de substituirea grupei acetoxi anomerice cu Br. Acceptorul de glicozil (**15**) ce prezintă liber doar OH-ul primar, a fost obținut din (**1**) prin următoarea secvență de reacții: tritilare regioselectivă la OH-6, urmată de acetilare și detritilare. Cuplarea acceptorului (**15**) cu donorul de glicozil (**14**) în condițiile de reacție Koenigs-Knorr conduce la dizaharida protejată (**16**) din care dizaharida (**17**) se obține prin deacetilare. Mărimea inelului și poziția de legare în produsul de cuplare au fost asigurate prin folosirea derivaților protejați potriviți precum și prin stabilitatea grupelor protectoare în etapa de glicozilare. Pe de altă parte trebuie notat faptul că semiacetalul liber (neprotejat cu grupe protectoare) poate suferi o deschidere de ciclu și o semiacetalizare, rezultând astfel într-un echilibru al diferitelor forme izomere.

Pentru a evita această problemă, oligozaharidele sunt adesea sintetizate în acele forme în care componentele lor semiacetalice lor sunt protejate cu grupe protectoare.

2.1.3. Metode de Glicozilare

2.1.3.1. Introducere

Carbohidrații din natură, în marea lor majoritate se găsesc sub formă de oligozaharide și polizaharide, unitățile monozaharidice fiind legate între ele sau de alte tipuri de compuși (agliconi) prin legături glicozidice. În natură se întâlnesc compuși ce posedă legături glicozidice de tip O- (**18**), S- (**19**), sau N- (**20**) (**Figura 2-2**). Dintre aceștia, compușii O-glicozidici sunt cei mai abundenți și cei mai importanți.

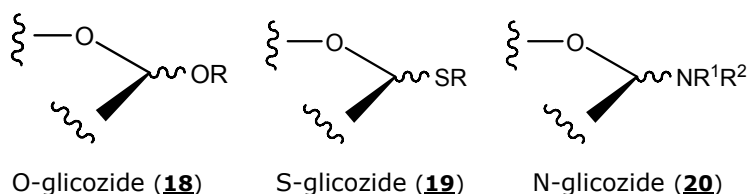


Figura 2-2. O-, S- și N-glicozide

Creșterea rapidă a interesului în ceea ce privește rolul biologic al glicoconjugatelor (glicoproteine, glicolipide și proteoglicani) [18, 19] necesită eșantioane omogene pentru a fi studiate. Sinteza chimică a acestor structuri complexe este astfel un instrument important în progresul glicobiologiei, o parte esențială a sintezei chimice fiind asamblarea de structuri oligomere sau polimere prin legarea monomerilor prin legături glicozidice. Dat fiind că hidroxilul de la centrul anomic este cel mai reactiv dintre numeroasele grupe funcționale ale monozaharidelor, aproape toate sintezele de carbohidrați necesită protejarea temporară a centrului anomic atunci când au loc transformări chimice la celelalte poziții. În mod frecvent, în sintezele „multietapă” ale hidraților de carbon, una din

primele etape este formarea unei glicozide simple cu scopul de a proteja centrul anomic. Fixarea configurației anomerice în forma unei glicozide este de asemenea foarte utilă deoarece astfel se evită complicațiile datorate echilibrului în care se află zaharurile libere, complicații ce duc la formarea de zaharuri cu diferite mărimi ale ciclului sau cu diferite configurații anomerice. Realizarea unor legături simple, eficiente și stereoselective este o provocare majoră a chimiei organice și bioorganice. Prin contrast cu sinteza de peptide, în reacțiile de glicozilare este necesar un control strict al stereochemiei.

Cum controlul stereochemic este influențat de un mare număr de factori, chiar o modificare minoră în structura glicozil-donorilor și glicozil-acceptorilor poate avea consecințe dramatice. Înțelegerea acestor influențe și dezvoltarea unor reacții de glicozilare mai eficiente și general aplicabile a fost și încă mai este o provocare majoră pentru chimia carbohidraților. De la primele sinteze de glicozide realizate de Michael [20] și Emil Fisher [21, 22] și apoi de cele ale lui Koenigs și Knorr [23], până în prezent au fost dezvoltate un număr foarte mare de metode de glicozilare, domeniul fiind și extensiv recenzat [24-28]. Principalele metode de glicozilare sunt sumarizate în **Figura 2-3**.

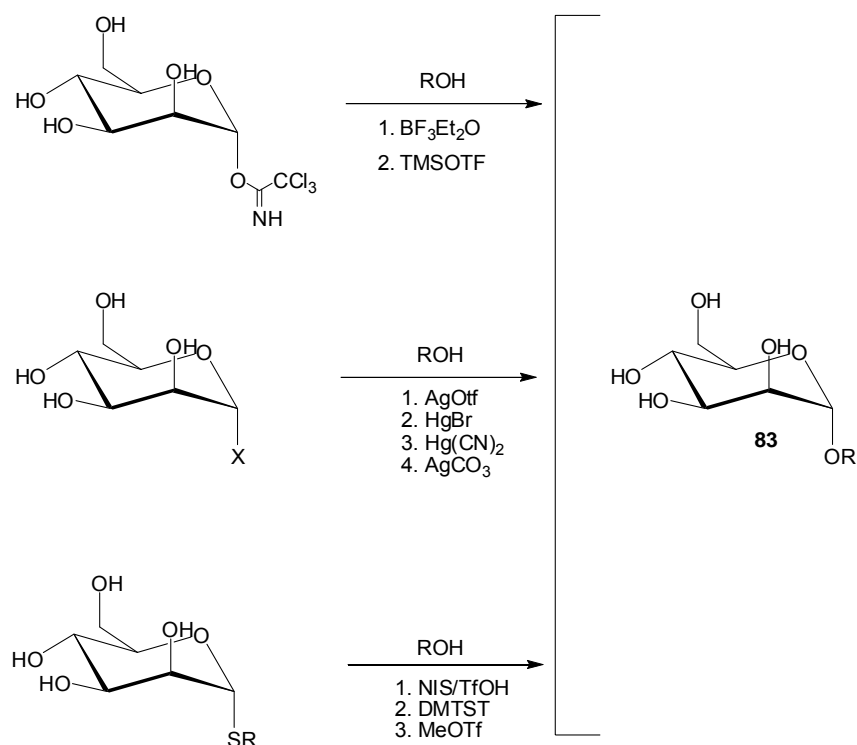


Figura 2-3. Metode de Glicozilare

Marea majoritate a glicozilărilor sunt realizate prin substituții nucleofile la carbonul anomic (**Figura 2-4**) ele putând fi clasificate și în funcție de natura grupei nucleofuge:

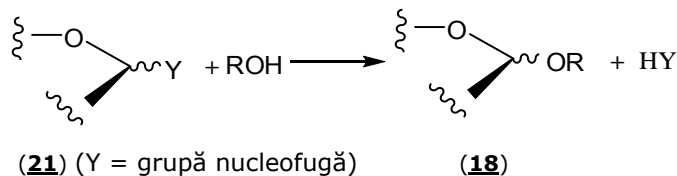


Figura 2-4. Sinteza glicozidelor prin substituție nucleofilă la carbonul anomic

2.1.3.2. Glicozilarea cu Tioglicozide (obținerea și activarea lor)

Este un tip de glicozilare prin substituție nucleofilă la carbonul anomic, prin acest tip de reacție fiind utilizați ca și grupe nucleofuge o mare varietate de substituenți anomeric. [16]

Tioglicozidele sunt destul de ușor de obținut prin mai multe metode, cel mai adesea folosindu-se metoda substituției nucleofile la centrul anomic. Tioglicozidele prezintă de asemenea o inerție remarcabilă, ele având nu doar stabilitate mare în timp ci și rezistență la manipulări chimice foarte diverse ce lasă în cele din urmă funcțiunea tioglicozidică intactă. Important este faptul că cele mai multe reacții de manipulare a grupelor protectoare ale carbohidraților pot fi realizate pe tioglicozide, acest aspect făcând posibilă obținerea de donori tioglicozidici înalt funcționalizați. Mai mult de atât, ei sunt inerți în mai multe condiții de glicozilare, astfel că tioglicozidele pot servi ca și acceptori de glicozil în construcția blocurilor de oligozaharide. Acestea pot fi apoi utilizate direct ca și donori de glicozil în etapa următoare. În plus, tioglicozidele pot fi transformate direct în alte tipuri de donori de glicozil, din acest punct de vedere fiind o clasă de compuși foarte versatilă [16].

A. Activarea tioglicozidelor:

În ciuda stabilității lor, tioglicozidele **19** pot fi activate cu catalizatori tiofili în condiții blânde (**Figura 2-5**). Ionul sulfoniu **22** format în reacție este o grupă nucleofugă mai bună, astfel că pierderea ionului sulfoniu asistată fie de oxigenul endociclic fie de grupările învecinate conduce la intermediarii obișnuiți ai reacțiilor de glicozilare (**23**), și apoi în final la O-glicozida **18**.

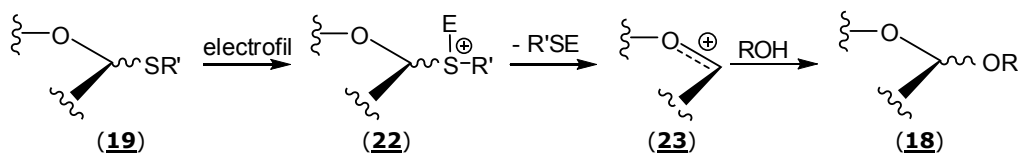


Figura 2-5. Activarea tioglicozidelor cu agenți electrofili (E=electrofil)

Primele încercări de activare a tioglicozidelor au folosit săruri metalice, cu cationi tiofili cea mai reușită fiind cea în care s-a folosit HgSO_4 [29]. Mai târziu au fost încercate și alte săruri metalice precum $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ [29], HgCl_2 [29, 30],

$\text{Hg}(\text{OBz})_2$ [31] și PhHgOTf [32]. Acești catalizatori dau însă randamente scăzute nefiind destul de eficienți pentru a fi de utilitate generală. Activarea tioglicozidelor cu săruri ale metalelor grele a fost utilizată la sinteza unor compuși naturali complecși cum ar fi eritromicina [33] sau digitoxina [30]. Mai recent a fost raportată activarea și cu AgPF_6 folosită pentru obținerea 2-deoxi-glicozidelor [34].

În ciuda succeselor în sinteza de produși naturali, catalizatorii de mai sus au utilitate limitată. Totuși, începând cu mijlocul anilor 1980 au fost dezvoltate o serie de metode de activare foarte puternice și eficiente. Prima metodă de acest tip, ce se bazează pe alchilarea cu MeOTf , a fost introdusă de Lonn [35-37] ea fiind încă și în prezent utilizată pe scară largă. Un alt concept de activare a tioglicozidelor presupune reacția lor cu electrofili cu sulf. Primii reactivi de acest tip au fost triflatul de dimetil-(metil-tio)-sulfoniu (DMTST, **24**) și tetrafluoro boratul corespunzător (DMTSF, **25**) (Figura 2-6) [38-41] ambii fiind și în prezent utilizați pe scară largă.

Alți agenți de alchilsulfenilare utili sunt de asemenea MeSBr , MeSOTf [42, 43] și PhSOTf [44, 45]. Mai recent au fost introduși și alți reactivi cu sulf, cum ar fi: S-(4-metoxifenil) benzosulfonatul (MPBT) (**26** în Figura 2-6) [46], 1-benzensulfenil piperidina (BSP) (**27** în Figura 2-6) [47] și difenilsulfoxidul [48], toți aceștia însă în combinație cu anhidrida triflică.

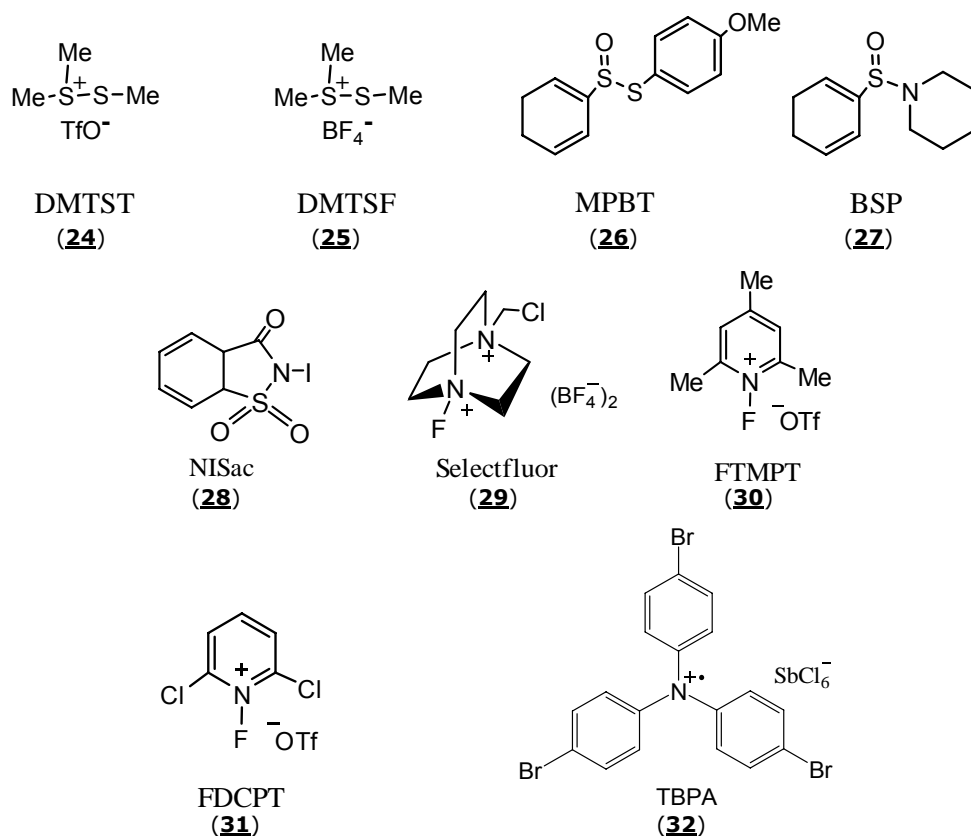


Figura 2-6. Structurile unor catalizatori ai tioglicozidelor

Ionii de haloniu sunt un alt tip de electrofil utilizați pentru activarea tioglicozidelor. Folosirea NBS (N-bromosuccinimida), introdusă prima dată de către Hanesian în sinteza de glicozide simple din 2-piridinil tioglicozidă [49], a fost extinsă mai apoi de Nicolau [50]. NBS este utilizat frecvent împreună cu diferiți promotori cu rolul de a crește randamentul și stereoselectivitatea, o mare varietate de promotori fiind încercați: acid triflic [51], Ph_2IOTf , Bu_4NOTf , Bu_4NClO_4 , LiNO_3 , LiClO_4 , silicagel [52], TMSOTf, $\text{Sn}(\text{OTf})_2$ [53].

Mai mulți compuși cu iod sunt utilizați de asemenea ca și catalizatori, IDCP (iod dicolidin percloratul) fiind cel introdus pentru prima dată ca și sursă de agent tiofil [54, 55]. Un sistem catalitic foarte eficient, N-iodosuccinimida în prezența unei cantități catalitice de acid triflic, a fost introdus independent unul de celalalt de Boom [56] și Fraser-Reid [57, 58]. Glicozilările catalizate de NIS-TfOH au loc frecvent la temperatură scăzută și într-un timp scurt, NIS-TfOH fiind capabil să activeze o mare varietate de donori de glicozil cu numeroși acceptori. Acidul triflic este în mod frecvent înlocuit cu acizi Lewis cum ar fi TMSOTf, TESOTf, AgOTf, $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, triflați de lantanide [59], LiNO_3 sau LiClO_4 [60] sau $\text{TrB}(\text{C}_6\text{F}_5)_4$ [61]. N-iodozaharina (NISac) (28 în Figura 2-6) a fost propusă recent ca înlocuitor al NIS cu scopul de a reduce obținerea ocazională de produși secundari, datorati nucleofilicității succinimidei formate în reacțiile catalizate de NIS [62].

Alte sisteme cu halogeni includ clorura de sulfuril - acid triflic [63, 64], Selectfluor (29 în Figura 2-6) cu $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ [65]. Au mai fost raportate în literatură de asemenea și FMPT (1-fluoropiridinium triflat) (30 în Figura 2-6) și FDCPT (1-fluoro-2,6-dichloropiridinium triflat) (31 în Figura 2-6).

Conversia tioglicozidelor în halogenuri de glicozil a fost cunoscută în literatura încă dinainte ca tioglicozidele să fie utilizate în mod direct ca și donori de glicozil [66, 67]. Câteva metode au avantajul generării *in situ* a halogenurilor de glicozil din tioglicozide, halogenurile reacționând apoi în condițiile Koenig-Knorr sau Lemieux. Ogawa [68] a raportat folosirea $\text{CuBr}_2 \cdot \text{Bu}_4\text{NBr}$ în combinație cu catalizatori Koenigs-Knorr tipici precum AgOTf, HgBr_2 și zeolit de argint. De asemenea activarea tioglicozidelor se poate face și cu $\text{Br}_2 \cdot \text{AgOTf}$ sau $\text{Br}_2 \cdot \text{Hg}(\text{CN})_2$ și are avantajul formării cu ușurință a bromurilor de glicozil [69].

Alte metode de activare includ folosirea nitrozil tetrafluoroboratului [70, 71], a TBPA (tris-(4-bromofenil)(amoniumil) hexaclorostibiu) (32 în Figura 2-6) [72, 73] și a sistemului $\text{TrB}(\text{C}_6\text{F}_5)_4 - \text{NaIO}_4$ [74]. De asemenea au fost raportate și glicozilări electrochimice folosind tioglicozide [75] precum și glicozilări la presiune înaltă [76].

O caracteristică unică a tioglicozidelor este aceea că spre deosebire de halogenurile de glicozil, reactivitatea lor poate fi controlată nu doar prin manipularea grupelor protectoare ale zaharurilor ci și prin alegerea agliconului. Recent au fost utilizate pentru glicozilări tioglicozide cu diferiți agliconi heterociclici precum benzothiazol-2-il [76, 77], piridin-2-il [33, 49, 78], pirimidin-2-il [49, 79], imidazol-2-il [49], 10-fenil-1H-tetrazolil [80, 81] și mai recent derivați de benzoxazol-2-il [82, 83]. Dacă se dorește, reactivitatea tioglicozidelor poate fi micșorată făcând agliconul mai voluminos sau mai atrăgător de electroni.

O altă cale de a controla reactivitatea tioglicozidelor este prin alegerea grupelor protectoare. Astfel, prin aceste proceduri, tioglicozidele pot fi folosite eficient în glicozilările de tip „activat-dezactivat”(„armed-disarmed”). Folosirea tioglicozidelor a fost recenziată în literatură de către Fügedi și Garegg [84, 85].

2.1.3.3. Glicozilarea cu Sulfoxizi și cu Sulfone (obținerea și activarea lor)

Glicozilarea cu sulfoxizi este o glicozilare prin substituție nucleofilă la carbonul anomic, o mare varietate de substituenți anomerici fiind utilizați ca și grupe nucleofuge în reacțiile de glicozilare ce au loc în acest mod. Glicozil sulfoxizii și sulfonele se prepară ușor prin oxidarea tioglicozidelor. [16]

A. Glicozil sulfoxizii ca donori de glicozil:

Sulfoxizii se formează în general ca amestecuri de diastereoizomeri, amestecul folosindu-se în continuare în reacțiile de glicozilare fără o separare în prealabil a diastereomerilor. [16]

Glicozil sulfoxizii ca donori de glicozil au fost introduși de Kahne [86], metoda fiind anunțată atunci ca fiind: „o nouă metodă de glicozilare rapidă a substraturilor nereactive în condiții blânde și cu randament ridicat”. Reacția implică sulfoxidul donor, un agent de activare (de obicei anhidrida triflică $\text{ Tf}_2\text{O}$ (**34** în Figura 2-7), o baza slab nucleofilă (2,6-di-tert-butil-4-metilpiridina, DTBMP) (**35** în Figura 2-7), și un acceptor nucleofil (cel mai adesea un alcool) (Figura 2-8). Începând cu anii 1990 metoda cu sulfoxid a fost investigată în mod extensiv de Kahne și Crich [86]. Sulfoxizii au fost utilizați și în sinteza de oligozaharide [87-89] precum și în cea a analogilor de nucleozide [90, 91]. De asemenea metoda cu sulfoxid a fost și cea care a „salvat” sintezele unor produși naturali glicozidici complecși, ea dând rezultate acolo unde multe alte metode de glicozilare au dat greș [92, 93].

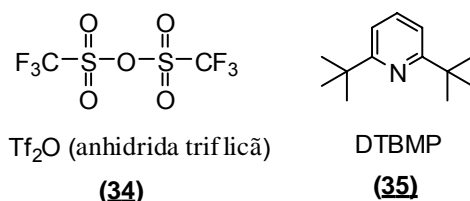


Figura 2-7. Promotori folosiți în reacțiile de glicozilare cu sulfoxizi



Figura 2-8. Metoda de glicozilare cu sulfoxizi (pentru simplificare substituenții de pe inelul zaharic, cu excepția celui de la C anomic, nu au fost reprezentați)

Când sunt activați cu anhidridă triflică sau cu cantități catalitice de acid triflic, glicozil sulfoxizii reacționează cu substraturile nereactive dând glicozide cu randamente destul de bune, o aplicație a TfOH fiind prima etapă a sintezei „one-pot” a trizaharidei ciclamicină [94]. Reacția este de altfel și baza unei metode foarte utile de sinteză a β -manopiranozidelor [44].

Diversii catalizatori folosiți pentru activarea glicozilsulfoxizilor ce au fost dezvoltati de-a lungul timpului sunt sumarizați în **Tabelul 2-1**.

Tabelul 2-1. Activarea glicozil sulfoxizilor:

Catalizator	Referințe	Catalizator	Referințe
Tf ₂ O	[59]	Cp ₂ ZrCl ₂ -AgClO ₄	[98]
TfOH	[94, 95]	I ₂	[99, 100]
TMSOTf	[96]	IBr	[100]
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀	[97]		

Anhidrida triflică (Tf₂O) în prezența unei baze ca DTBMP este cel mai frecvent utilizat catalizator în cazul sulfoxizilor [59]. Alți catalizatori folosiți pentru activarea sulfoxizilor în reacțiile de glicozilare, în afară de anhidrida triflică sunt TfOH [94, 95], TMSOTf în prezență de trietil fosfit [96], heteropoliacidul H₃PW₁₂O₄₀ [97], reactivul zirconocenic Cp₂ZrCl₂-AgClO₄ [98] precum și iodul sau monoBr-iodul [99, 100].

B. Glicozil sulfonele ca donori de glicozil:

În comparație cu glicozil sulfoxizii, glicozil sulfonele sunt de departe mai puțin reactive. Cu toate acestea activarea unor sulfone ale unor 2-deoxi zaharuri a fost cu succes folosită în reacțiile de glicozilare ce au folosit MgBr₂Et₂O [101, 102]. Introduse mai recent, piridil sulfonele reacționează în prezența catalizatorului Sm(OTf)₃ conducând cu randamente moderate la oligozaharide [103a]. Utilitatea glicozil sulfonelor ca donori de glicozil în sinteza C- și O-glicozidelor a mai fost de asemenea studiată și de către Șișu și colab. [103b, 103c, 140a-f, 141a-c, 142a-c]

C. Obținerea Sulfoxizilor:

Tioglicozidele pot fi utilizate direct în reacția de glicozilare sau pot transformate înainte în alte tipuri de glicozil donori precum sulfoxizii. Tioglicozidele sunt cel mai adesea oxidate la amestecul diastereoizomeric de sulfoxizi folosind m-CPBA [87]. Reacția trebuie însă monitorizată și avut grijă să se minimizeze supraoxidarea la sulfonă, fiind necesară pentru aceasta o temperatură joasă a reacției. Kakarla a folosit H₂O₂/Ac₂O/SiO₂ în CH₂Cl₂ pentru a produce sulfoxidul (38) cu un randament excelent și în cantități mari, iar Juodvirsis a obținut amestecuri de sulfoxizi (40) și sulfone folosind Br₂/KHCO₃ [104], (Figura 2-9)

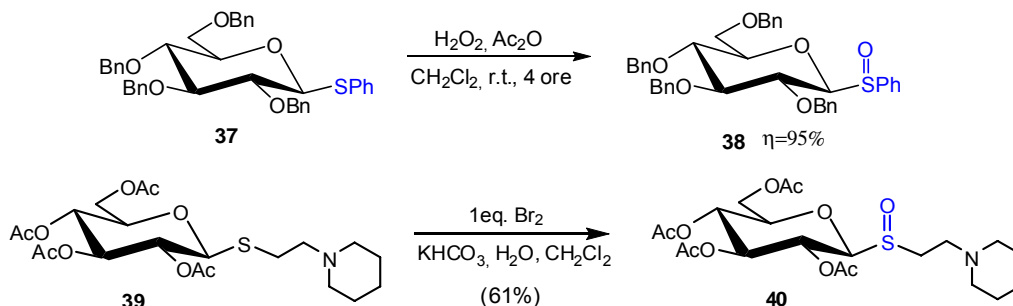


Figura 2-9. Obținere de sulfoxizi din tioglicozide

2.1.4. Stereoselectivitatea în reacțiile de glicozilare cu sulfoxizi

2.1.4.1. Stereoselectivitatea:

În absența unei grupe participante învecinate, cel care prevalează este efectul anomic (un substituent electronegativ la carbonul anomic prefera orientarea axială și nu pe cea ecuatorială), obținându-se o glicozidă axială ca și produs de reacție majoritar. Atacul nucleofilului se face din direcția axială din considerente stereoelectronice. Solventul influențează de asemenea stereoselectivitatea glicozilării, solvenții aromatici asigurând cea mai bună selectivitate pentru formarea α -glicozidelor.

Când există un substituent la C2 capabil de asistență anchimerică, se formează aproape exclusiv o glicozidă 1,2-*trans* (**Figura 2-10**), DCM fiind solventul preferat pentru aceste glicozilări.

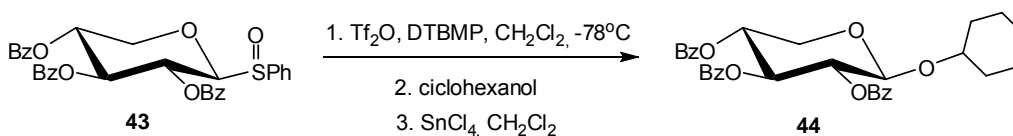


Figura 2-10. Exemplu de formare a unui ortoester

Thompson și colab. au arătat că o grupare protectoare de tip acetat la C2 este eficientă în formarea stereoselectivă a unei β -glicozide atunci când se folosește ca promotor $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ în prezența DTBMP [105]. S-a sugerat că baza crește nucleofilitatea acceptorului de glicozil în timp ce acizii Lewis catalizează rearanjarea ortoesterilor la β -glicozidele corespunzătoare.

2.1.4.2. Considerații privind formarea β -manozidelor:

Obținerea β -manozidelor este de mult timp o provocare în chimia carbohidraților, deoarece atât efectul anomerice cât și grupa esterică de la C2 favorizează formarea α -glicozidei (1,2-*trans*). Pentru a obține o β -manozidă, Stork a folosit o „legătură siliconică temporară” („agrafa lui Stork”) împreună cu metoda de glicozilare cu sulfoxid [106, 107]. Crich și Sun au raportat de asemenea un protocol eficient pentru sinteza stereoselectivă a β -manopiranozidelor utilizând și ei sulfoxizii ca și donori de glicozil [108]. Interesant este că o inversare a stereoselectivității anomerice a fost observată doar prin simpla schimbare a ordinii în care se adaugă reactanții și reactivii (**Figura 2-11**). Când în timpul activării sulfoxidului **45** este prezent acceptorul de glicozil **46**, predomină anomerul α , iar când sulfoxidul **45** este activat înainte de adăugarea nucleofilului **46**, se formează β -glicozida.

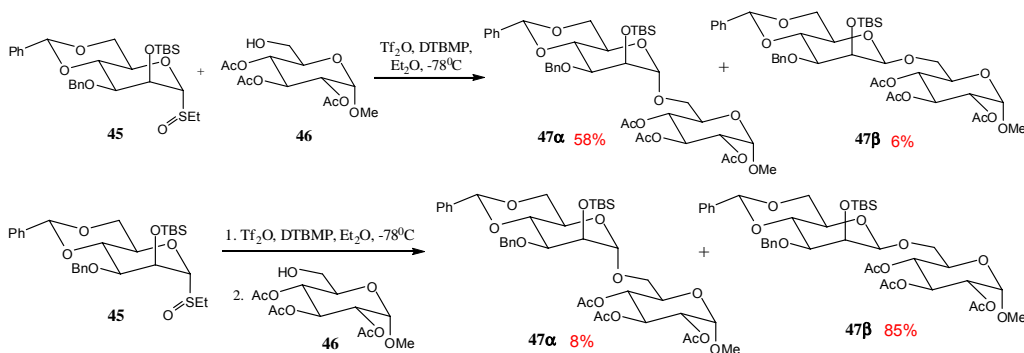


Figura 2-11. Stereoselectivitate anomerică inversată în sinteza de β -manozide

2.1.5. Conceptul „activat-dezactivat” („armed-disarmed”) în reacțiile de glicozilare

Un concept cheie în domeniul carbohidraților în ceea ce privește reactivitatea donatorilor de glicozil este așa numitul concept „activat-dezactivat”, unde „activat” (*armed*) înseamnă mai reactiv iar „dezactivat” (*disarmed*) mai puțin reactiv.

Activarea unui donor de glicozil în prezența unui acceptor de glicozil ce conține aceeași grupare nucleofugă este posibilă doar în cazul în care cele 2 zaharuri sunt protejate cu grupări protectoare diferite. Se formează astfel doar o singură dizaharidă, o homodimerizare a acceptorului în acest caz neavând loc (vezi un exemplu în **Figura 2-12**). Astfel, reactivitatea la centrul anomerice depinde într-o mare măsură de alegerea grupelor protectoare, în special a celor de la C-2. Glicozilii donori pot fi clasificați în 2 mari grupe:

1. donori „activați” (*armed*) - ușor activabili

- gruparea protectoare de la C-2 „mărește” reactivitatea centrului anomerice

2. donori „dezactivați” (*disarmed*) - mai greu de activat

- gruparea protectoare de la C-2 „micșorează” reactivitatea centrului anomer

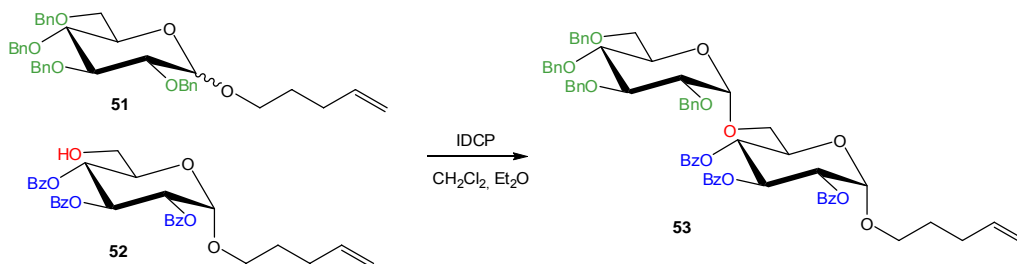


Figura 2-12. Dacă donorul și acceptorul de glicozil conțin aceeași grupă nucleofugă, atunci formarea unei singure dizaharide are loc doar dacă cele 2 zaharuri sunt protejate cu grupări protectoare diferite

2.1.5.1. Glicozilarea de tip „activat-dezactivat”

În strategia de glicozilare de tip „*activat-dezactivat*” introdusă de Fraser-Reid și colab. [57, 58, 110], este utilizat doar un singur tip de grupare anomeră. Strategia este bazată pe observația că substituenții de la inelul zaharic, în particular aceia de la C-2, au o mare influență asupra reactivității în reacțiile de glicozilare. În general, substituenții atrăgători de electroni, cum ar fi grupele acil dezactivează centrul anomer, în timp ce substituenții donori de electroni (eterii) activează centrul anomer. Diferențele de reactivitate pot fi însă suficiente pentru a realiza glicozilări chemoselective.

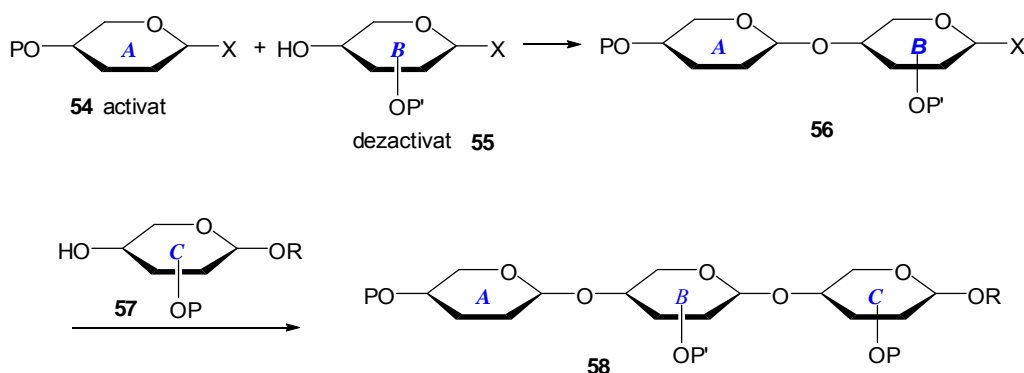


Figura 2-13. Glicozilarea de tip „activat-dezactivat” (P, P' = grupe protectoare)

Astfel, așa cum se vede și în **Figura 2-13**, un donor activat (**54**) poate fi cuplat cu un acceptor dezactivat (**55**) fără o autocondensare ulterioară. Compusul

dezactivat rezultat (**56**) poate fi folosit ca și donor de glicozil în reacțiile de cuplare ulterioare, activarea sa făcându-se fie prin schimbarea grupelor protectoare fie prin folosirea unui catalizator mult mai puternic, capabil să activeze compusul dezactivat [16].

După cum este și ilustrat în **Figura 2-14**, cuplarea 4-pentenil glicozidei benzilate (activate) (**59**) cu cea acetilată (dezactivată) (**60**) folosind IDCP ca și catalizator, conduce la formarea dizaharidei (**61**) sub forma amestecului de anomeri [110]. Dizaharida dezactivată (**61**) poate fi ulterior utilizată ca donor, reacția sa cu (**62**) în sistemul de cataliză NIS-TfOH [57, 58] conducând la obținerea trizaharidei (**63**).

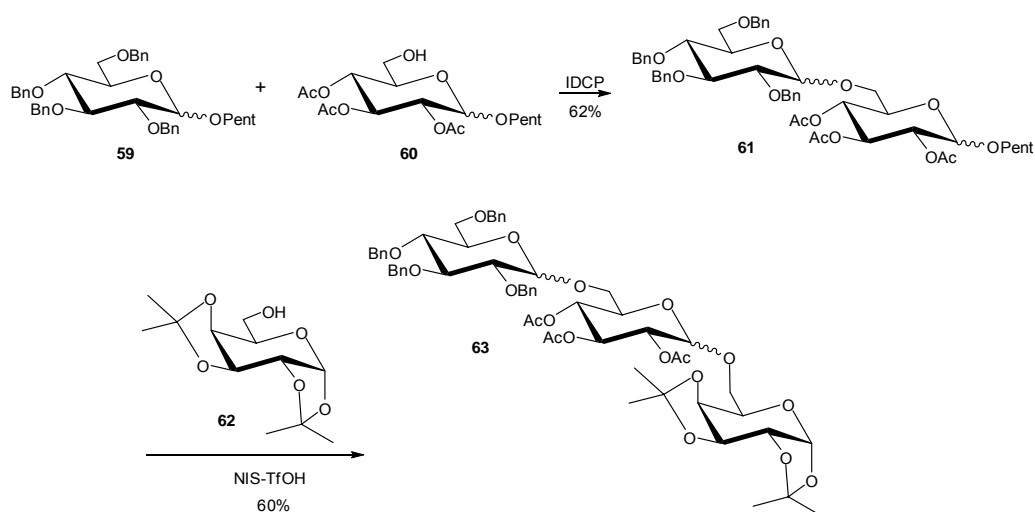


Figura 2-14. Glicozilare de tip „activat-dezactivat” („armed-disarmed”) în funcție de proprietățile substituenților ca donori/acceptori de electroni

Conceptul de „activat-dezactivat” („armed-disarmed”) a fost pentru prima dată descris pentru *n*-pentenil glicozide [57, 110], însă foarte curând s-a descoperit că acest fenomen este general aplicabil. Mai târziu au fost raportate și glicozilări de tip „activat-dezactivat” cu diverse tipuri de donori de glicozil, inclusiv tioglicozide [54, 56], glicali [111], fluoruri de glicozil [112], selenoglicozide [113], semiacetali [114], glicozil fosforo-diamido-tioați [115, 116] și glicozil tioformimidați [117].

Dincolo de natura donoare sau atrăgătoare de electroni a substituenților, efectele conformaționale influențează de asemenea reactivitatea donrilor de glicozil, raportându-se că unii acetali ciclici au efect de dezactivare [118]. Un exemplu de reactivitate cu formare a unui acetal ciclic [119] este dat în **Figura 2-15**. După cum se observă, selenoglicozida activată (**64**) reacționează cu **65** (care este dezactivată din cauza diacetalului său 1, 2 ciclohexanic) formând selenoglicozida dezactivată (**66**) ca sinton în sinteza unei manoze de tip nonazaharidă.

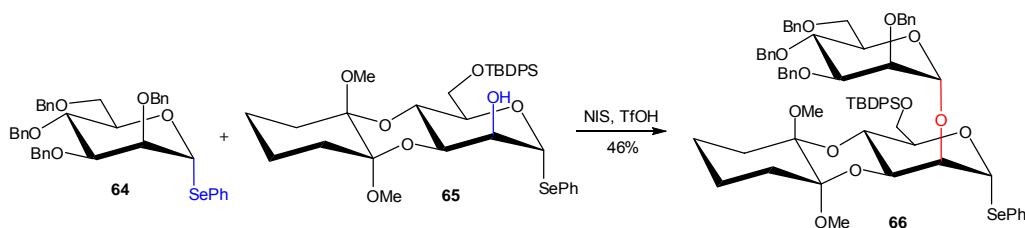


Figura 2-15. Glicozilarea de tip activat-dezactivat în funcție de efectele de torsiune

Tiozaharidele oferă o altă cale de modulare a reactivității în glicozilările de tip „*activat-dezactivat*” prin schimbările ce au loc în componenta lor agliconică. Astfel, Boons and co. [120, 121] au obținut tioglicozide dezactivate prin creșterea volumului steric al agliconului. În acest mod glicozilarea diciclo-hexil-metil tioglicozidei (**67**) cu etil tioglicozida (**68**) folosind IDCP ca și catalizator a dus la obținerea dizaharidei (**69**) [121] (Figura 2-16).

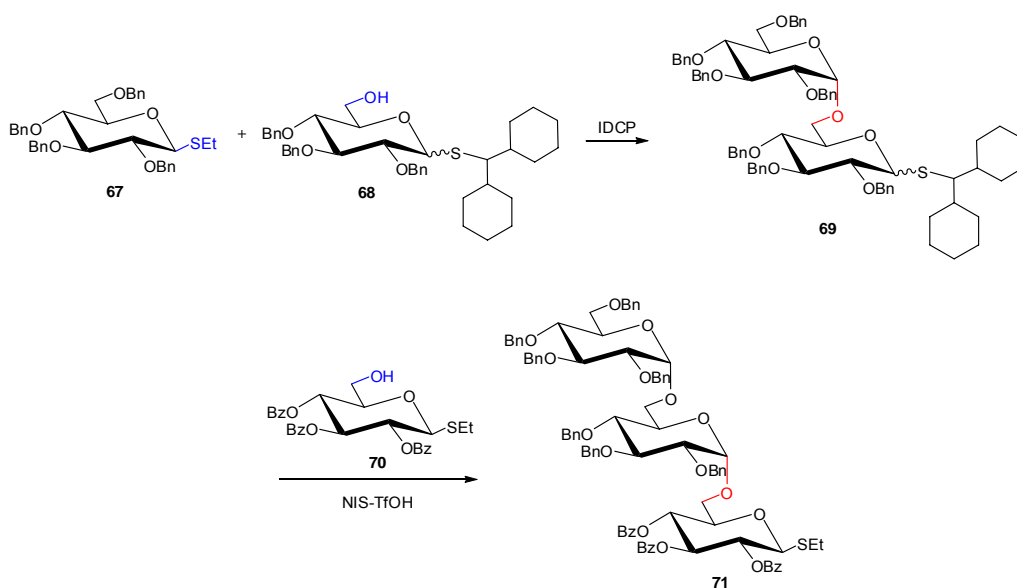


Figura 2-16. Glicozilare de tip activat-dezactivat în funcție de mărimea grupelor nucleofuge

Apoi diciclohexilmetil tioglicozida (**69**) a fost activată folosind NIS-TfOH, în urma reacției cu tioglicozida benzoilată (**70**) formându-se derivatul tioglicozidic al trizaharidei (**71**). Interesant este că randamentele și stereoselectivitățile reacțiilor de cuplare variază, ele depinzând de configurația anomerică a diciclo-hexil-metil tioglicozidelor (**68** și **69**).

Strategia de glicozilare de tip „*activat-dezactivat*” se bazează pe diferențele de reactivitate ale partenerilor de cuplare, după cum s-a arătat de altfel și în

exemplele de mai sus. Recent au fost obținute date privind reactivitatea unor serii de tioglicozide, fiind de asemenea creată și o bază de date cu reactivitățile lor relative [122, 123].

2.2. Contribuții Originale.

Sinteza și investigarea unor inhibitori enzimatici glicozidici cu importanță în afecțiunile umane. Donori de glicozil "activați conformațional". Efectul conformației în reactivitatea glicozidelor:

2.2.1. Introducere:

Recent, cercetătorii ce activează în domeniul chimiei hidraților de carbon și-au îndreptat atenția asupra felului în care controlul fin al reactivității poate fi utilizat pentru sintetiza mai facilă și mai selectivă a hidraților de carbon oligomeri mai complicați [122] utilizând așa numitele efecte de tip "activat-dezactivat" („armed-disarmed”) [109, 110].

S-a arătat deja [124] că reactivitatea este în principal guvernată de efectele electronice. Bols și colaboratorii au demonstrat recent că grupele hidroxil axiale sunt mai puțin atrăgătoare de electroni decât grupele ecuatoriale [125]. Aceasta indică faptul că stereochemia și conformația sunt proprietăți ce afectează în mod hotărâtor viteza de hidroliză a glicozidelor [126, 127]. Astfel, prin forțarea compusului aflat în mod uzual în conformația 4C_1 să adopte conformația 1C_4 viteza de hidroliză a unei glicozide poate fi crescută de 50-100 ori [128] (în **Figura 2-17**: discuție privind conformațiile scaun 4C_1 și 1C_4).

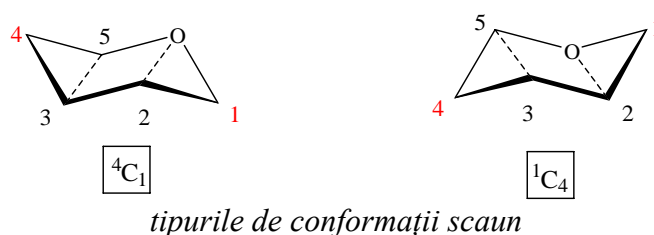


Figura 2-17. Conformațiile scaun sunt notate ca 4C_1 și 1C_4 unde litera C provine de la "chair" (scaun). Conformațiile sunt vizualizate prin două cicluri pliate având doi atomi ai ciclului plasați deasupra respectiv dedesubtul planului format din ceilalți 4 atomi ai ciclului. Atomul de carbon de deasupra planului ciclului este reprezentat ca indice superior la stânga în timp ce atomul aflat dedesubtul planului este reprezentat ca indice inferior la dreapta literei C. Dacă privim planul determinat de cei patru atomi ai ciclului și numerotând atomii în sensul acelor ceasornicului, atunci C4 se află deasupra planului iar C1 se află dedesubtul planului determinat de C2, C3, C5 și O5. În acest caz conformația se notează ca fiind 4C_1 . Invers, în conformația 1C_4 , C1 este deasupra planului iar C4 este dedesubtul planului.

Un efect similar este așteptat și în cazul donozilor de glicozil, astfel că un donoz de glicozil aflat în conformația 1C_4 ar putea fi "activat conformațional" (**74** din **Figura 2-18**) și astfel mai reactiv decât un donoz de glicozil "activat" clasic (**Figura 2-18**), în continuare în cadrul acestei părți experimentale urmând a fi investigate aceste efecte în sinteza de glicozide.

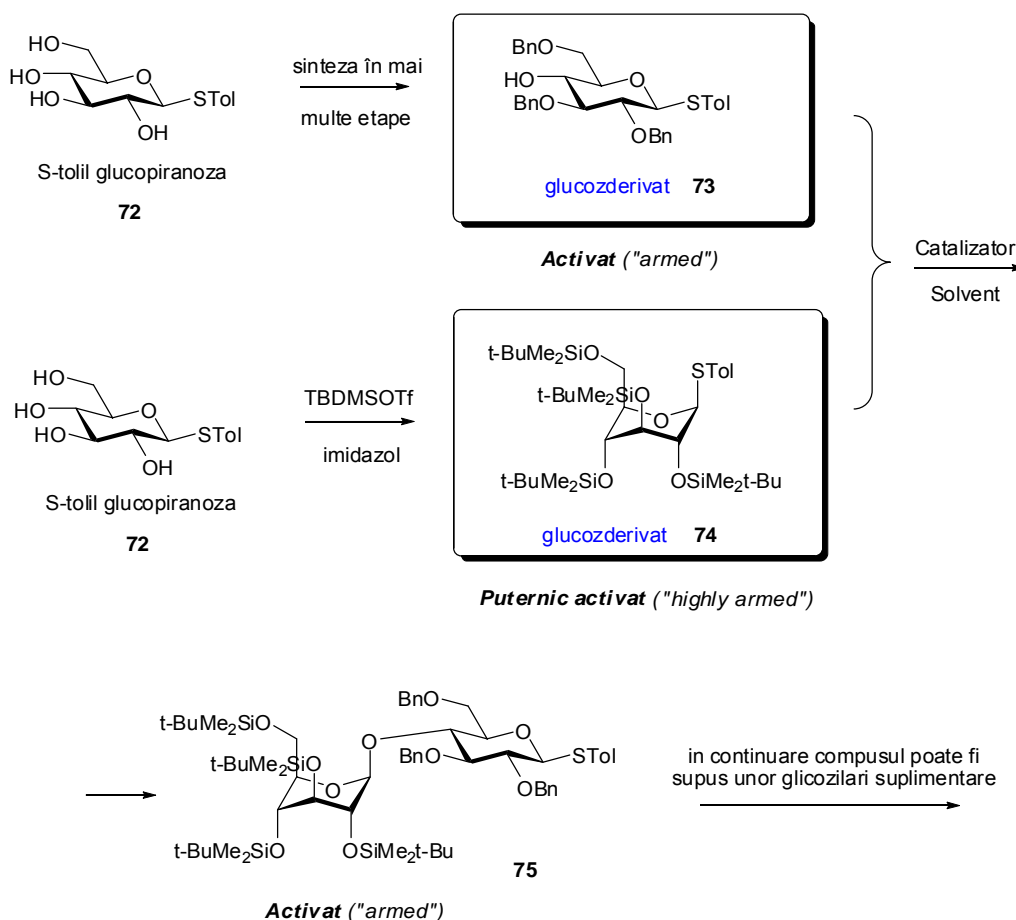


Figura 2-18. Sinteza dizaharidei activate (**75**) din donozul de glicozil (**74**) activat conformațional. În continuare tioglicozida (**75**) poate fi cuplată direct cu un alt acceptor ce poate fi chiar și un acceptor tioglicozidic dezactivat. TBDMS = t-BuMe₂Si, Tol = p-MePh

Activarea conformațională (**Figura 2-18**) ar putea fi realizată prin persililarea carbohidratului (**72**) cu TBDMS sau cu alte grupe silil mai mari. În acest fel grupele TBDMS din pozițiile 3,4,6 din glicozidă îl forțează să adopte conformația 1C_4 [129], deoarece împiedicarea sterică dintre cele 2 grupe TBDMSO *trans*-di-

ecuatoriale devine prea mare. Astfel prin persililarea tioglicozidei (**72**) va rezulta donatorul (**74**) în forma conformațională inversată, care datorită grupelor electronice axiale, va fi de 50-100 de ori mai reactivă decât donorul "activat" clasic, cuplarea lui (**74**) cu acceptorul (**73**) urmând a fi investigată în viitor în diferite condiții de glicozilare. Produsul de reacție (**75**) este el însuși un donor de glicozil "activat" care poate fi angajat cu ușurință în sinteza de molecule mari. Alt aspect interesant al acestei reacții este stereochemia. Este verosimil a se presupune că un oarecare control al stereochemiei în direcția formării β -glicozidei (**75**) se poate obține prin alegerea corectă a condițiilor, dat fiind că acest produs este stabilizat de efectul anomic. Studiile efectuate pentru găsirea celor mai bune condiții pentru o glicozilare β -selectivă în cazul unui derivat de manoză (**Figura 2-20**) au fost realizate ca parte a acestui proiect și sunt prezentate în continuare în cadrul tezei.

Donorii de glicozil: tiomanozida (**76**) și N-acetiltioglicozida (**77**) (**Figura 2-19**), pot fi sintetizați prin metode chimice standard, prin persililarea tioglicozidelor neprotejate.

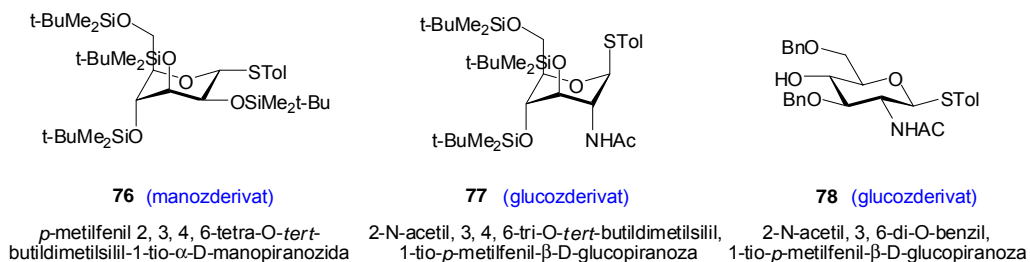


Figura 2-19. Tiomanozidă activată conformațional (**76**) și N-acetil-tio-glicozide (**77**, **78**)

Compusul **76** este de un interes special deoarece poate fi folosit pentru sinteza β -manozidelor de importanță biologică, compuși foarte dificil de sintetizat. Compusul **77** poate fi folosit împreună cu acceptorul **78** (similar **Figura 2-18**) pentru sinteza de chitosani, chitosanii fiind compuși polizaharidici liniari formați din D-glucozamină legată β -(1-4) (unitatea deacetilată) și N-acetil-D-glucozamină (unitatea acetalată). Chitosanii se pot obține comercial prin deacetilarea chitinei, gradul de deacetilare ajungând în jur de 60-100 %.

2.2.2. Obiective:

Obiectivul acestei părți a tezei a fost sinteza stereoselectivă a donorului de glicozil (**76**) "puternic activat" din punct de vedere conformațional, investigarea efectului conformației asupra reactivității și determinarea condițiilor optime pentru glicozilarea β -selectivă a compusului activat (**81**) în vederea formării β -manozidei (**82**), compus cu importanță biologică. (**Figura 2-20**).

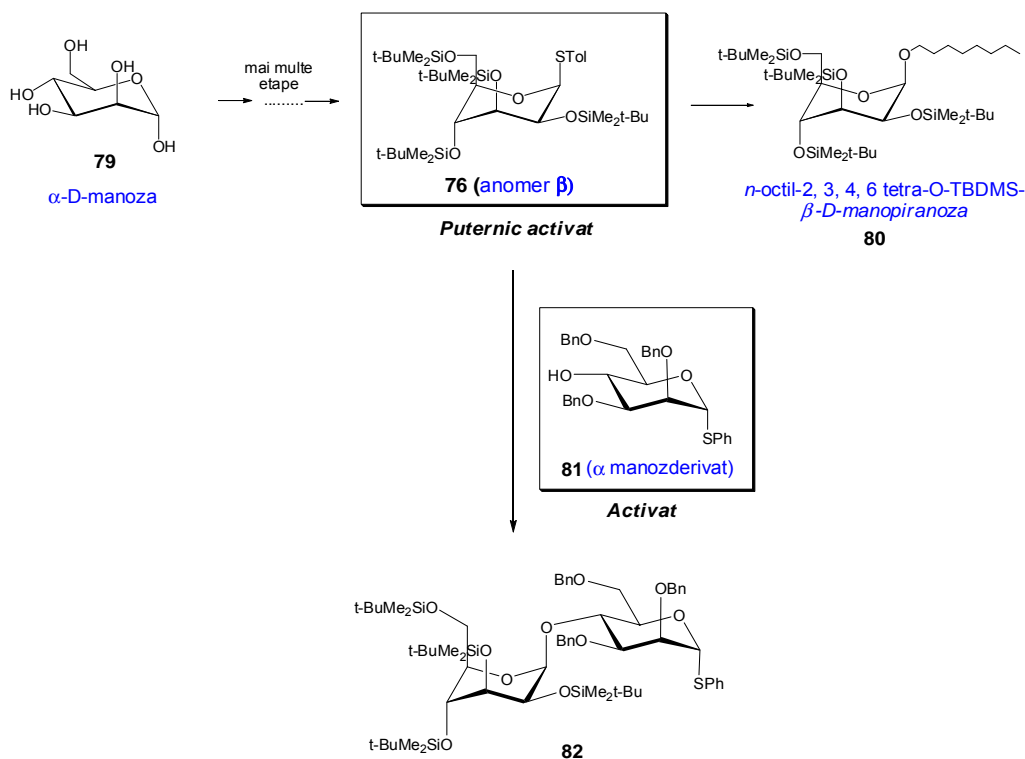


Figura 2-20. Sumar al reacțiilor și compușilor ce urmează a fi sintetizați în cadrul acestei părți experimentale.

2.2.3. Rezultate și discuții:

Legăturile glicozidice nu sunt toate la fel de ușor de realizat. Glicozidele cu substituenții de la C-1 și C-2 în orientare *trans* sunt cel mai ușor de obținut (compușii 1-5 din **Figura 2-21**), în timp ce glicozidele cu C-1 și C-2 în orientare *cis* sunt cel mai dificil (compușii 6-10 din **Figura 2-21**). Acest aspect privind ușurința sau dificultatea obținerii glicozidelor este evidențiat de altfel și printr-un grafic cu câteva exemple în figura de mai jos. După cum se observă din figura de mai jos cel mai greu de sintetizat sunt legăturile glicozidice ale β -D-manopiranozidelor (10 din **Figura 2-21**).

Un concept important în domeniul carbohidraților în ceea ce privește reactivitatea donatorilor de glicozil este conceptul "activat-dezactivat" concept ce a fost prezentat pe larg într-un capitol anterior (cap. 2.1.5.). Pe de altă parte un donor de glicozil ca să fie eficient trebuie să aibă următoarele caracteristici: accesibilitate, stabilitate ridicată la manipulări ale grupelor protectoare precum și condiții blânde de activare.

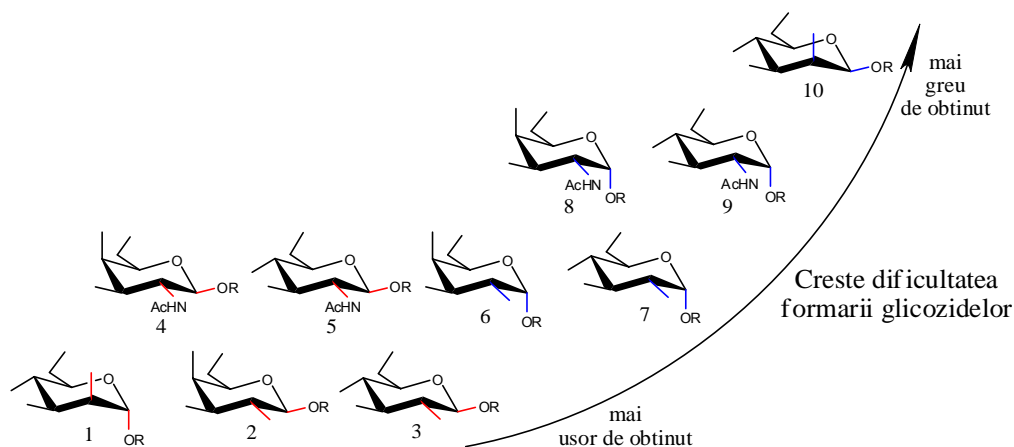


Figura 2-21. Cum crește dificultatea formării legăturilor glicozidice în cazul zaharurilor piranozice funcție de orientarea cis/trans a substituenților de la C1 și C2 (Pentru simplificare, compușii din figură au fost reprezentați fără grupe $-OH$ și grupe protectoare.)

În ceea ce privește **β -manopiranozidele**, acestea sunt foarte dificil de obținut din câteva motive și anume:

1) din cauza efectului anomic. Un substituent electronegativ la carbonul anomic preferă orientarea axială și nu pe cea ecuatorială, ceea ce face ca substituenții de la C-1 și C-2 să se afle în poziție 1,2 *trans*, în acest caz atacul nucleofilului pe partea β a legăturii anomerice a donorului de glicozil fiind mult mai dificil datorită împiedicării sterice dintre substituent și nucleofil. (**83.1** în **Figura 2-22**)

2) din cauza împiedicării sterice a substituenților de la C-1 și C-2 aflați în orientare 1,2-*cis* (1a-2e) în cazul unei β -manozide. (**83.2** în **Figura 2-22**)

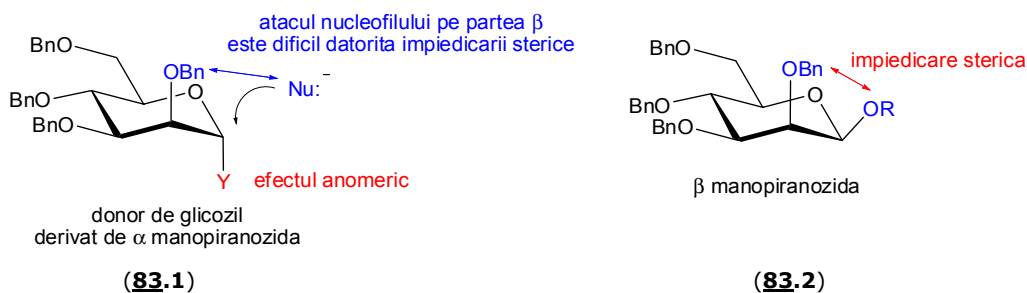


Figura 2-22. Dificultăți în obținerea β -manopiranozidelor ($Y = Br, Cl, F, N, O, S$)

Activitatea experimentală din cadrul aceste părți a tezei poate fi structurată în 4 mari etape, ea fiind prezentată sub această formă în continuare.

1. Sinteza donorului de glicozil, în care s-a sintetizat prin procedurile chimice obișnuite *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6- tetra-*O*-acetil- 1-tio- α -D-manopiranozida [122]
2. Inversia de conformație, în care s-a încercat inversarea conformației manopiranozidei din 4C_1 (preferată) în cea 1C_4 (mai reactivă). De asemenea s-au realizat studii 1H -RMN privind condițiile de temperatură în care conformerul 1C_4 (mai reactiv) devine predominant.
3. Studii privind capacitatea de glicozilare cu un acceptor de glicozil martor (*n*-octanol)
4. Investigarea obținerii glicozidei țintă prin glicozilarea acceptorului de glicozil **81** de asemenea sintetizat în cadrul grupului Prof. Bols., cu donorul de glicozil **87** sintetizat în cadrul acestei teze de doctorat.

2.2.3.1. SINTEZA DONORULUI DE GLICOZIL

Exista numeroasele tipuri de glicozil donori ce pot fi utilizați în sintezele de glicozide. Dintre acestea tioglicozidele ca și donori de glicozil au o serie de avantaje: sunt destul de ușor de obținut prin mai multe metode și prezintă și o stabilitate remarcabilă, cele mai multe reacții de manipulare ale grupelor protectoare a carbohidraților putând fi realizate pe tioglicozide, acest aspect făcând posibilă obținerea de donori tioglicozidici înalt funcționalizați (vezi detalii în cap. 2.1.3.2). De asemenea tioglicozidele pot fi la rândul lor ușor transformate în alte tipuri de donori de glicozil după cum se poate vedea și în figura simplificată de mai jos (**Fig. 2-23**):

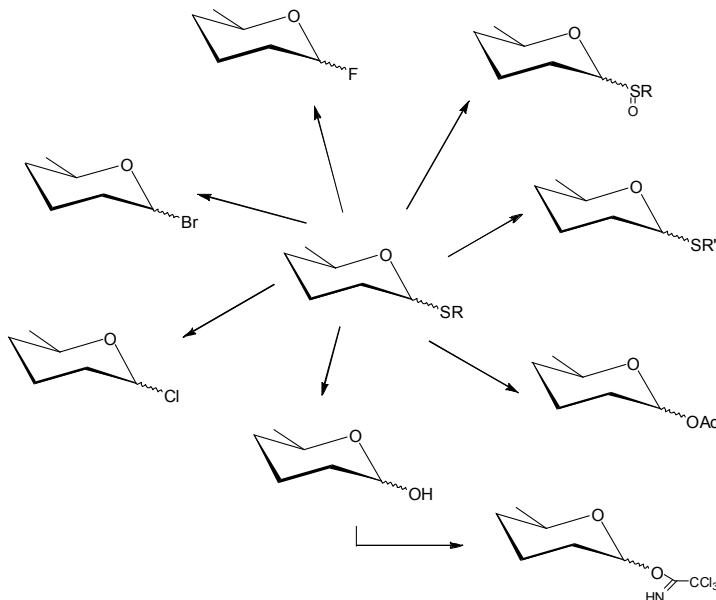


Figura 2-23. Tipuri de donori de glicozil ce pot fi obținuți din tioglicozide

(Pentru simplificare, pe figură nu s-au menționat condițiile de reacție iar compușii au fost reprezentați fără grupele $-OH$ și fără grupele protectoare)

Astfel, ca și donor de glicozil pentru sinteza β -manopiranozidei s-a folosit o tioglicozidă a cărei obținere este prezentată mai jos.

Compusul **85** a fost sintetizat în 2 etape prin procedurile uzuale. Mai întâi s-a realizat o protejare a grupărilor -OH prin reacția α -D-manozei **79** cu Ac_2O (**Figura 2-24**) [130] iar apoi introducerea grupei tiolice s-a făcut în condițiile cu $\text{BF}_3\text{Et}_2\text{O}$ (**Figura 2-25**) [122]. Se obțin exclusiv anomerul α al pentaacetil manozei, precum și anomerul α al tiomanopiranozidei, aspecte confirmate prin analizele ^1H -RMN (**Anexa 1, Anexa 2**), fiind conforme și cu datele de literatură.

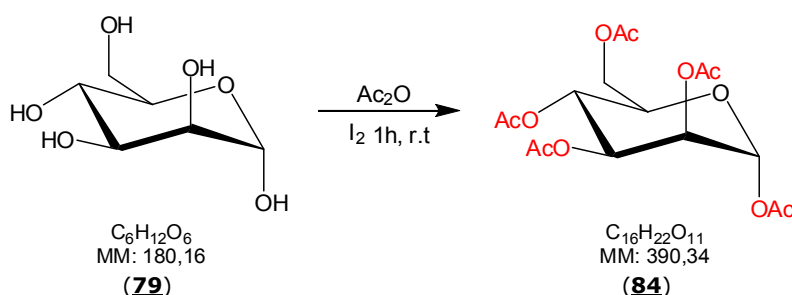


Figura 2-24. Obținerea penta acetil α -D-manozei

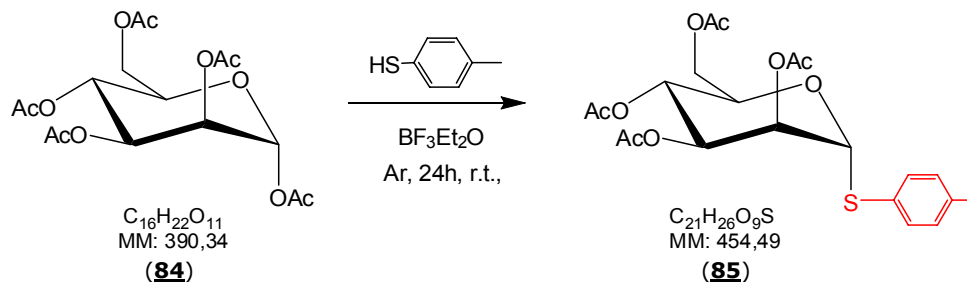


Figura 2-25. Obținerea *p*-metilfenil 2,3,4 6-tetra-O-acetil-1-tio- α -D-manopiranozidei

2.2.3.2. INVERSIA DE CONFORMAȚIE

Conformația pe care tinde să o adopte un zahar în forma piranozică este conformația scaun, de energie minimă. În cazul manozei conformerul preferat, de energia cea mai scăzută este $^4\text{C}_1$, care însă este și cel mai puțin reactiv (**Figura 2-26**). De aceea în continuare se va realiza inversia ciclului la conformerul $^1\text{C}_4$ (mai reactiv) prin protejarea grupelor OH cu TBDMS, grupe protectoare foarte voluminoase.

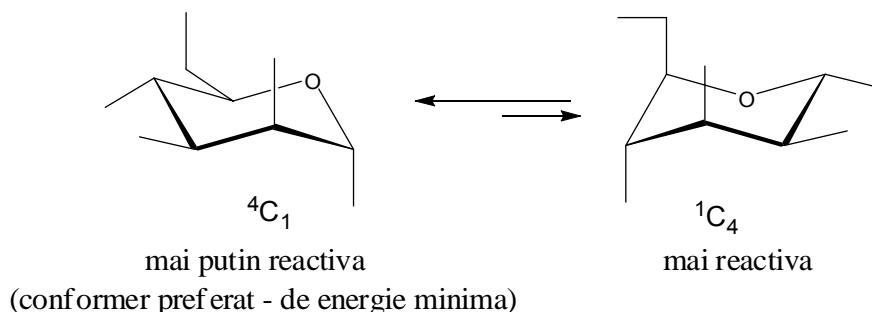


Figura 2-26. echilibrul conformațional ${}^4C_1/{}^1C_4$ pentru manoză

Într-o primă fază grupele Ac au fost îndepărtate prin procedura Zemplen cu Na în MeOH, obținându-se manopiranozida **86** (Figura 2-27), apoi forțarea inversiei ciclului fiind realizată prin introducerea TBDMS, o grupă protectare foarte voluminoasă (Figura 2-28) [131, 132]. Ambii compuși obținuți (compusul **86** și compusul **87**) sunt noi în literatură, fiind caracterizați prin analize MS și RMN în partea experimentală.

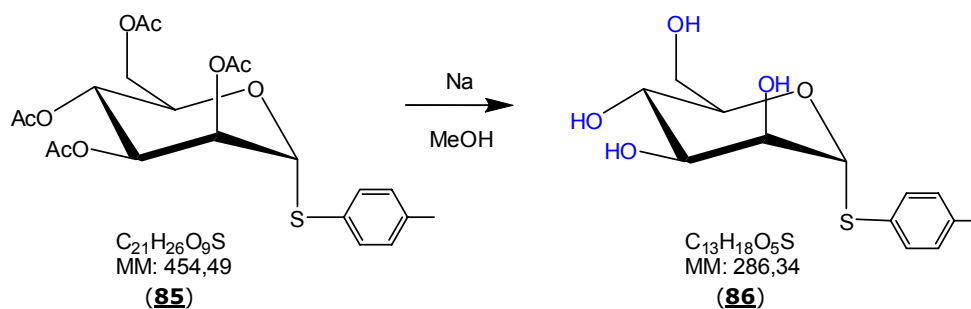


Figura 2-27. Obținerea *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6-tetra-hidroxi-1-tio- α -D-manopiranozidei

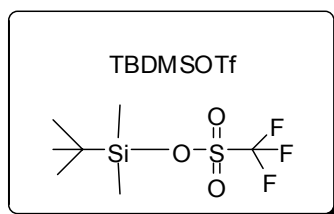


Figura 2-29. *tert*-butil, di-metil silil tri-fluor metan sulfonat

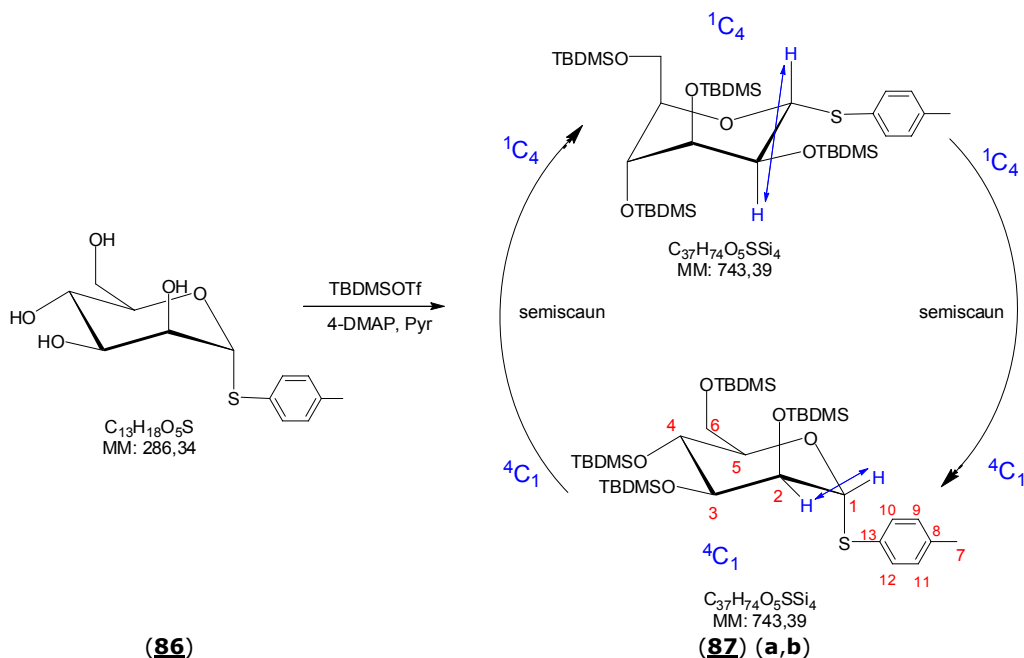


Figura 2-28. Obținere: *p*-metilfenil 2, 3, 4, 6-tetra-*O*-tert-butildimetilsilil- 1-tio- α -*D*-manopiranozida [131, 132]

În urma reacției de obținere a **87** inversia de ciclu nu este completă. Cei 2 conformeri sunt în echilibru, cel dorit, mai reactiv, fiind conformerul 1C_4 (**Anexa 3**).

Pentru realizarea unei glicozilări β -selective, la reacție trebuie să participe β -feniltioglicozida (conformerul 1C_4). Aceasta este mai reactivă, însă nu este și cea cu conformația de energie minimă (4C_1 preferată) (**Figura 2-30**).

Astfel, în continuare s-au efectuat unele studii de 1H -RMN la diferite temperaturi, pentru a determina condițiile de temperatură în care echilibrul conformațional este deplasat înspre conformerul 1C_4 (mai reactiv).

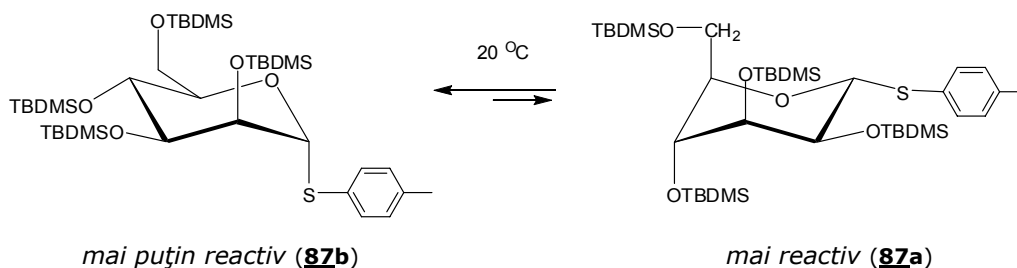


Figura 2-30. echilibrul conformațional la +20°C

Atribuirea conformației se realizează prin identificarea semnalelor celor doi protoni de la C1 și C2 în spectrul ^1H -RMN pe baza valorii constantei de cuplaj ($J_{1,2}$). Cunoscându-se din literatură că pentru conformerul $^1\text{C}_4$ constanta de cuplaj $J_{\text{H1-H2}}$ (a-a) este mai mare decât pentru conformerul $^4\text{C}_1$ $J_{\text{H1-H2}}$ (e-e) (vezi **Figura 2-31**), se pot identifica astfel relativ ușor în spectrul ^1H -RMN semnalele corespunzătoare celor 2 conformeri (vezi **Tabel 2-2** și **Anexele 3÷6**).

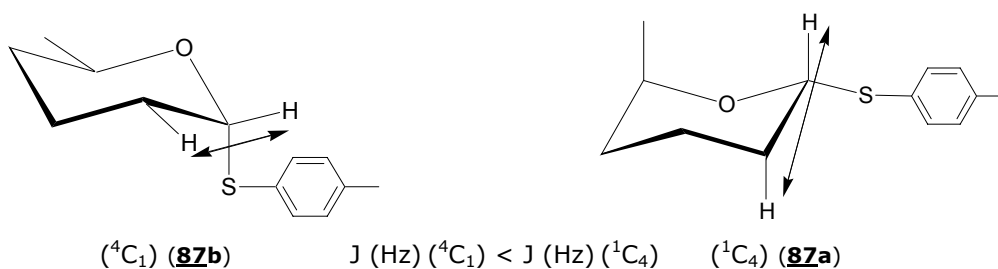


Figura 2-31. Diferențele privind mărimea constantelor de cuplaj $J_{\text{a-a}}$ și $J_{\text{e-e}}$ în cazul conformațiilor scaun

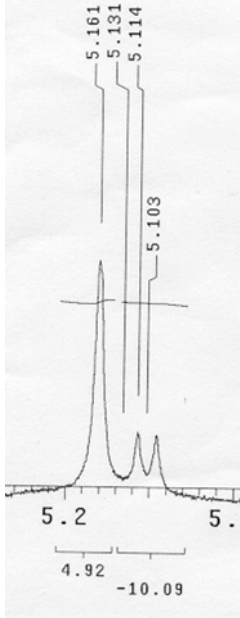
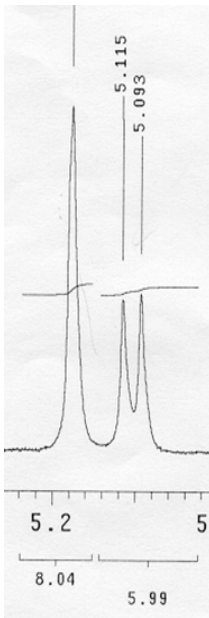
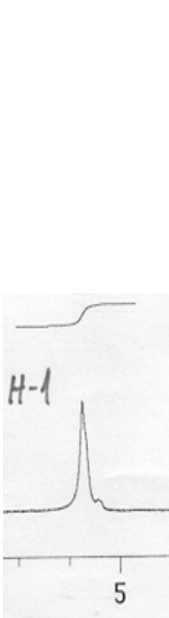
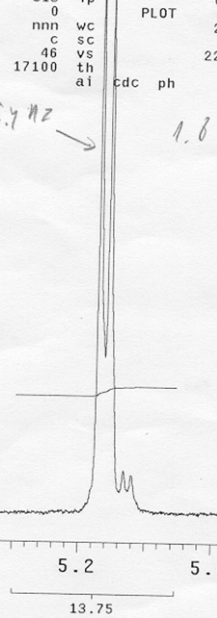
Poziția în spectrul ^1H -RMN a semnalelor lui H-1 este diferită pentru cei 2 conformeri, semnalele fiind vizualizate la aproximativ 5.0-5.2 ppm (vezi **Tabel 2-2** și **Anexele 3÷6**). Raportul în care se află în echilibru cei 2 conformeri la o temperatură dată este dat valoarea raportului integralelor corespunzătoare semnalului lui H-1 ale celor conformeri. Valorile constantei de cuplaj ($J_{\text{H-H}}$) și raportul în care se află cei 2 conformeri $^4\text{C}_1$ și $^1\text{C}_4$ ai compusului **87** la echilibru la diferite temperaturi sunt summarize în **Tabelul 2-3**.

Din **Tabelul 2-2** și **Tabelul 2-3** se observă că la $+20^\circ\text{C}$ raportul în care se află cei 2 conformeri la echilibru este de $^4\text{C}_1 : ^1\text{C}_4 = 4:1$, conformerul $^1\text{C}_4$ fiind cel mai favorizat la echilibrul de la $t = -20^\circ\text{C}$

Tabel 2-2. Semnalul lui H1 al compusului **87** din spectrele ^1H -RMN la diferite temperaturi:

	$t(^{\circ}\text{C})$ ^1H -RMN	$t(^{\circ}\text{C})$ ^1H -RMN	$t(^{\circ}\text{C})$ ^1H -RMN	$t(^{\circ}\text{C})$ ^1H -RMN
	-50°C	-20°C	20°C	60°C
	$^4\text{C}_1 : ^1\text{C}_4$	$^4\text{C}_1 : ^1\text{C}_4$	$^4\text{C}_1 : ^1\text{C}_4$	$^4\text{C}_1 : ^1\text{C}_4$
	2 : 1	1.5 : 1	4 : 1	10 : 1

-continuarea tabelului pe pagina următoare-

Semnalul lui H-1 în spectrul ^1H -RMN				
	Anexa 6	Anexa 5	Anexa 3	Anexa 4

În tabel sunt prezentate proporțiile în care se află conformerii $^4\text{C}_1$: $^1\text{C}_4$ ai compusului **82** în urma realizării de experimente ^1H -RMN la diferite temperaturi

Tabel 2-3. Valorile constantei de cuplaj și raportul în care se află cei 2 conformeri ($^4\text{C}_1$ și $^1\text{C}_4$) ai compusului **82** la echilibru la diferite temperaturi

Nr. crt.	$t^\circ\text{C}$	anomerul α		$^4\text{C}_1$: $^1\text{C}_4$
		J(Hz) H1($^4\text{C}_1$) e-e	J(Hz) H1($^1\text{C}_4$) a-a	
1	-50 $^\circ\text{C}$	1.6Hz	8.8Hz	2:1
2	-20 $^\circ\text{C}$	1.6Hz	8.8Hz	1.5:1
3	26 $^\circ\text{C}$	4.8Hz	6.6Hz	4:1
4	60 $^\circ\text{C}$	6.4Hz	4.3Hz	10:1

2.2.3.3. STUDII PRIVIND CAPACITATEA DE GLICOZILARE

Pentru determinarea condițiilor optime de glicozilare nu s-a folosit de la început ca aglicon acceptorul de glicozil ci testele de glicozilare s-au realizat mai întâi cu n-

octanol. În scopul îmbunătățirii selectivității α/β s-au mai făcut unele studii privind efectul solventului asupra selectivității.

A. REACTIA DE GLICOZILARE cu *n*-octanol (determinarea condițiilor optime)

Pentru determinarea condițiilor optime de glicozilare, s-au făcut încercări cu 6 tipuri de catalizatori, utilizându-se diverși solvenți (**Figura 2-32**) și (**Tabelul 2-4**). Catalizatorii ce au fost folosiți în reacțiile de glicozilare au fost: NIS/TfOH și NIS [120, 122, 133], DMTST [39, 134] (pentru obținerea DMTST: [135]), DMTST/DTBMP [134], MeOTf [35, 36, 136], SELECTFLUOR [65], alte aplicații ale lor fiind date în referințe.

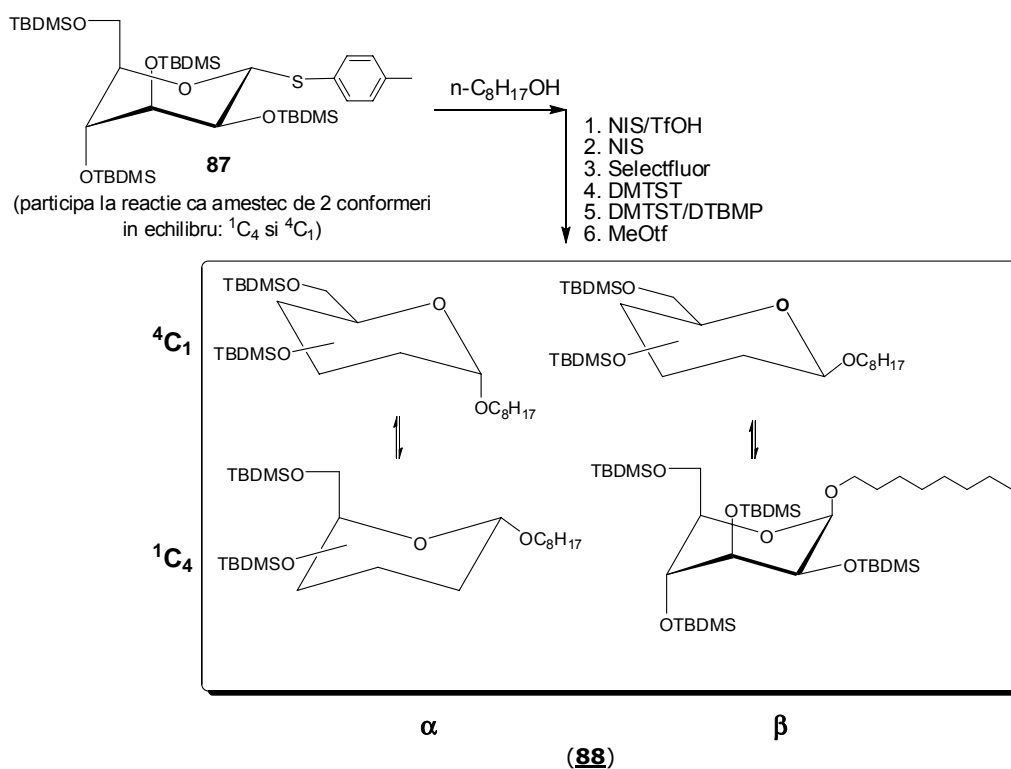


Figura 2-32. Cuplarea tiomanozidei **87** cu *n*-octanol. (**87** participă la reacție ca și amestec de 2 conformeri în echilibru)

Produsul de reacție s-a obținut sub forma amestecului de anomeri (α și β) al celor două forme ${}^4\text{C}_1$ și ${}^1\text{C}_4$ (**Figura 2-32, Anexa 7**). Deoarece grupele protectoare TBDMS sunt neparticipante, întodeauna ca produs de reacție se va forma un ameste de α și β , scopul inversiei de conformație fiind acela de a găsi condițiile optime pentru obținerea cu preponderență a anomerului β . Deoarece

dintre cei 2 conformeri ai materialului de start, 1C_4 este mai puțin stabil dar mai reactiv, trebuie de asemenea avut în vedere acest aspect și găsite condițiile optime pentru ca echilibrul celor 2 conformeri să fie deplasat în măsura mai mare spre 1C_4 .

În cazul reacției de glicozilare catalizate de NIS/TfOH, carbohidratul reacționează cu NIS și nu cu n-octanolul, (probabil datorită prezenței TfOH) obținându-se ca și produs majoritar compusul cuplat cu NIS (**89**) (**Figura 2-33**).

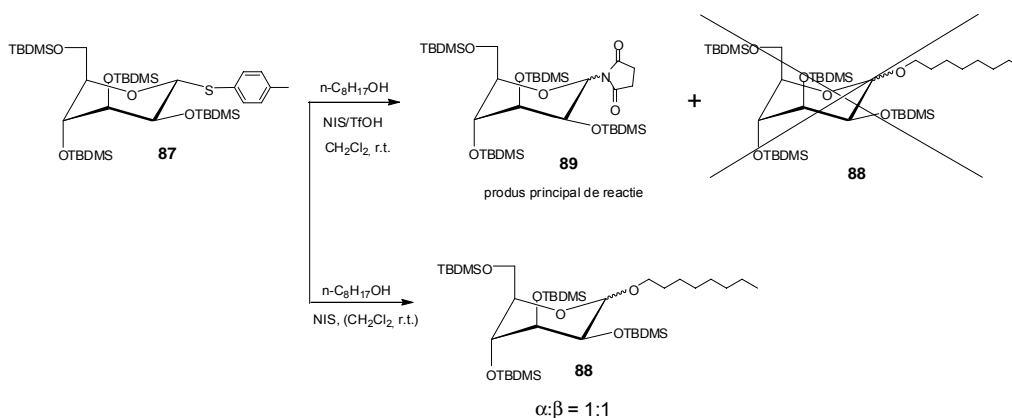


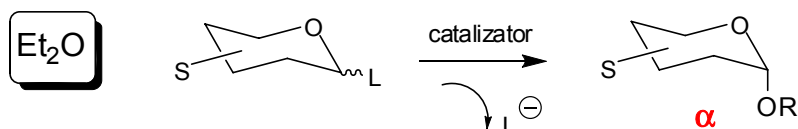
Figura 2-33. Glicozilarea cu n-octanol catalizată de NIS/TfOH și NIS

O posibilă explicație a formării N-glicozil succinimidei în locul octil-glicozidei este aceea că deși azotul succinimidei este un nucleofil slab, în cazul unor acceptori mai puțin reactivi el intră în competiție la centrul de reacție al donorului de glicozil activat. Acest lucru este cel mai evident atunci când -OH acceptorului este foarte împiedicat steric sau când are o slabă nucleofilicitate (de ex. datorită efectului atrăgător de electroni al substituenților din poziția vicinală). Astfel de reacții în care se obține o N-glicozil succinimidă au mai fost de altfel menționate în literatură [122]. În continuare următoarele încercări cu NIS au fost făcute fără adăugare de TfOH.

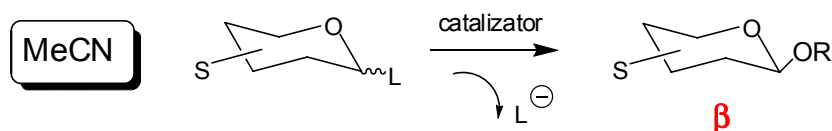
B. EFECTUL SOLVENTULUI ÎN SELECTIVITATEA α/β :

În reacțiile de glicozilare, selectivitatea α/β poate fi influențată și de polaritatea solventului. Din literatură [137] se cunoaște că un solvent mai polar favorizează obținerea anomerului β iar polaritatea scăzută a solventului crește selectivitatea α (**Figura 2-34**).

solvent cu polaritate scazuta:



solvent cu polaritate ridicata:



S = substituent
L = ligand

Figura 2-34. Influența polarității solvenților asupra selectivității α/β

Astfel, în continuare s-au realizat și încercări de creștere a selectivității β prin utilizarea de solvenți diferiți, însă în cazul derivatului de manoză nu s-a confirmat creșterea selectivității β prin utilizarea de solvenți mai polari. Influența solvenților asupra selectivității în cazul derivaților de manoză este nesemnificativă. (**Tabelul 2-4**)

C. CATALIZATORI ȘI SOLVENȚI FOLOSIȚI ÎN REACȚIA DE GLICOZILARE CU N-OCTANOL

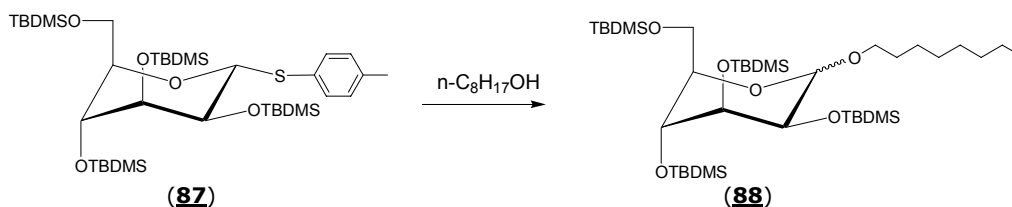


Figura 2-35. Glicozilarea tioglicozidei cu n -octanol

Tabel 2-4. Condițiile de glicozilare folosite în sinteza manozidei **88** și raportul α/β obținut în fiecare caz:

Nr. crt.	Tiomanozidă/ <i>n</i> -octanol (eq)	Catalizator (eq)	Solvent	Temp.	Raport $\alpha:\beta$
1	1: 1.1	NIS(2.5eq)/TfOH	CH ₂ Cl ₂	r.t.	-----
2	1: 1.1	NIS	CH ₂ Cl ₂	r.t.	1.1:1
3	1: 1.1	NIS (adăugare în porții 1h)	CH ₂ Cl ₂	r.t.	-----
4	1: 1.1	NIS	CH ₂ Cl ₂	40 °C	-----
5	1: 1.1	NIS	MeCN	60 °C	2.7:1
6	1: 1.1	NIS	Et ₂ O	r.t.	1.1:1
7	1: 1.1	NIS	CH ₂ Cl ₂	-78 °C	-----
8	1: 1.1	NIS	CH ₂ Cl ₂	-10 °C→0 °C	1.3:1
9	1: 1.1	NIS	MeNO ₂ / Tol (2:1)	0 °C	1.5:1
10	1: 1.1	NIS	MeCN / Tol (2:1)	0 °C	2.4:1
11	1: 1.1	NIS	CH ₂ Cl ₂ / MeCN	r.t.	1,5:1
12	1:1.2	DMTST	Et ₂ O	r.t.	5:1
13	1:1.2	DMTST	CH ₂ Cl ₂	r.t.	----
14	1:1.2	DMTST	CH ₂ Cl ₂ / MeCN	r.t.	----
15	1:1.2	DMTST/DTBMP	CH ₂ Cl ₂	r.t.	----
16	1:1.2	MeOTf	Et ₂ O	r.t.	----
17	1:1.2	SELECTFLUOR	MeCN	r.t.	----

Reacția nu are loc : (3, 7); Reacția are loc cu η mic (1, 4, 12, 13, 14, 15, 16, 17)

Cea mai bună selectivitate β ($\alpha/\beta = 1/1$) s-a obținut cu NIS (CH₂Cl₂ și Et₂O). Prea mică totuși, influența solventilor asupra selectivității fiind nesemnificativă. Astfel că în continuare a fost încercată o altă variantă ce presupune utilizarea sulfoxidului ca donator de glicozil.

D. OXIDAREA LA SULFOXID

O altă abordare în ceea ce privește reacțiile de glicozilare presupune folosirea unui sulfoxid ca și donor de glicozil [vezi **Tabel 2-1** pentru referințe]. Astfel, în continuare sulfoxidul derivatului de manoză a fost sintetizat prin oxidarea **87** cu m-CPBA (**Figura 2-36**), pentru ca mai apoi n-octanolul să fie glicozilat cu sulfoxidul astfel obținut.

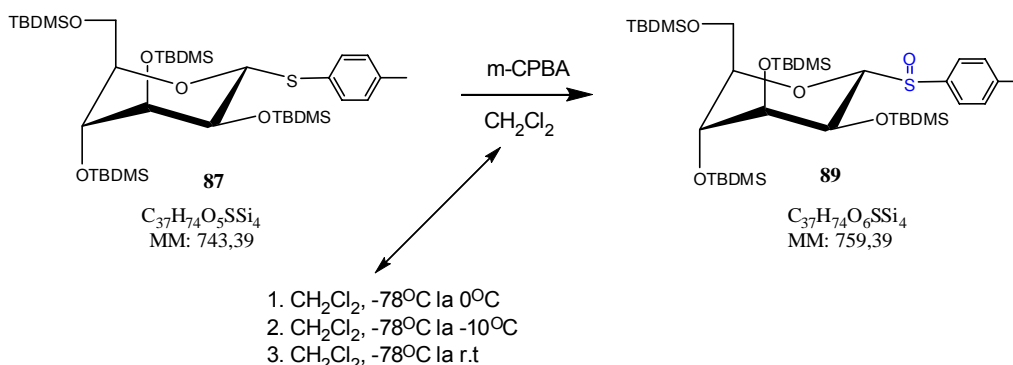


Figura 2-36. Oxidarea tiomanozidei la sulfoxid

E. GLICOZILAREA SULFOXIDULUI CU *n*-OCTANOL

Reacția de cuplare a sulfoxidului cu n-octanol (**Figura 2-37**) s-a realizat în condițiile catalizei cu DMTBMP/Tf₂O utilizând ca solvent atât DCM cât și un amestec Et₂O/C₆H₆ (**Tabel 2-5**) [108, 138].

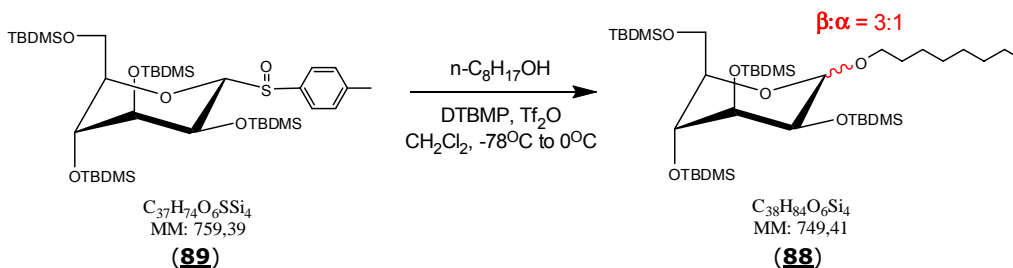


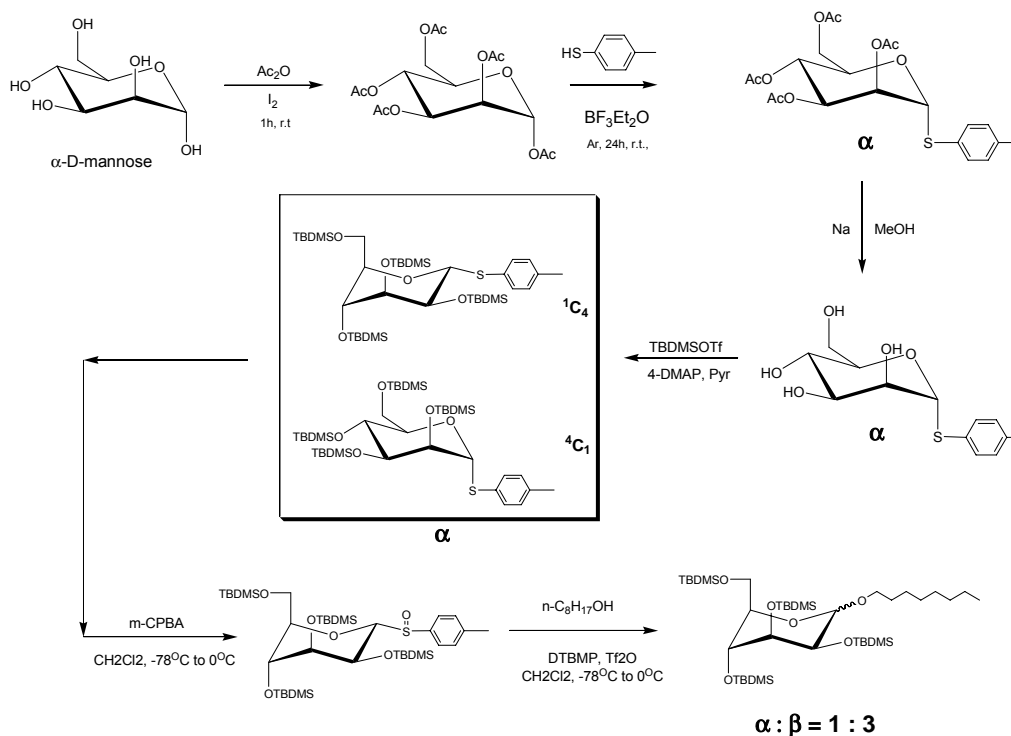
Figura 2-37. Cuplarea sulfoxidului **89** cu n-octanol [108, 138]

Tabel 2-5. Condițiile de reacție la sinteza manozidei **88** și raportul α/β obținut:

Nr. crt.	89 / <i>n</i> -octanol (eq)	Catalizator (eq)	solvent	raport $\alpha:\beta$	Obs.
1	1: 2	DTBMP(2eq)/Tf ₂ O(1.1eq)	CH ₂ Cl ₂	1:3.2	----
2	1: 2	DTBMP(2eq)/Tf ₂ O(1.1eq)	Et ₂ O/C ₆ H ₆ (7:1 v/v)	----	η mic

În final β -manopiranozida s-a obținut într-un raport $\beta: \alpha = 3:1$. În continuare, pe baza studiilor și rezultatelor obținute anterior, se va încerca cuplarea β selectivă a lui **87** ("puternic activat") cu compusul **81** ("activat") sintetizat de asemenea în cadrul grupului Prof. M. Bols.

O schema simplificată a etapelor parcurse până acum este prezentată mai jos (**Figura 2-38**):

**Figura 2-38.** Schema generală a sintezelor de până acum

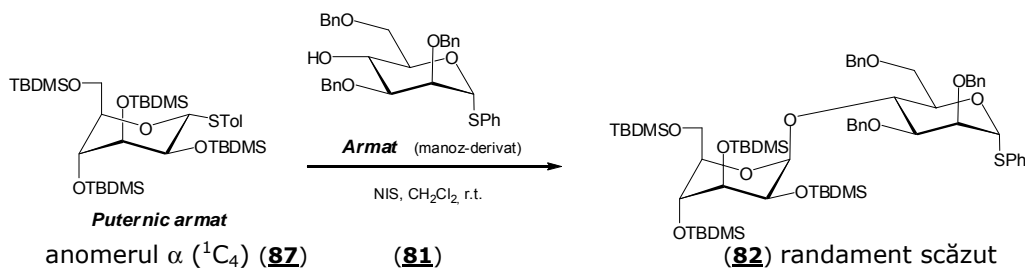
2.2.3.4. SINTEZA β -MANOPIRANOZIDEI ȚINTĂ:

Figura 2-39. Reacția de obținerea β -D-manopiranozidei țintă **75 β , α**

Reacția de cuplare β selectivă a lui **87** ("puternic activat") cu compusul **81** ("activat") s-a făcut în condițiile (NIS, CH_2Cl_2 , r.t.) (**Figura 2-39**), condiții care, în urma studiilor efectuate anterior, au arătat cea mai bună selectivitate β . După cum se vede în (**Figura 2-40**), controlul TLC a indicat consumarea integrală a manozidei, randamentul reacției a fost însă unul scăzut, urmând ca în continuare să se studieze optimizarea reacției atât în ceea ce privește randamentul acesteia cât și în ceea ce privește stereoselectivitatea sa. Încercările urmează a fi făcute utilizând ca donor atât tioglicozida cât și sulfoxidul.

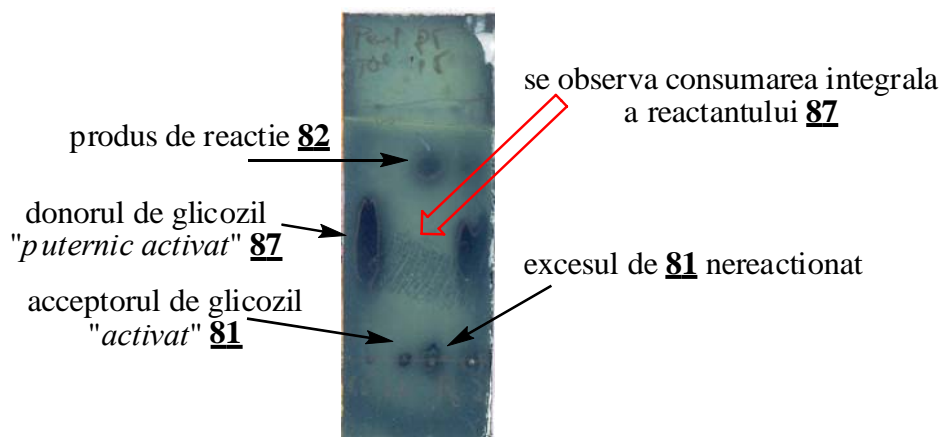


Figura 2-40. Controlul TLC (Pentan:Toluen 85:15) al reacției de obținere a β -manozidei **82**. Produsul de reacție este la $R_f=0.80$

2.3. Concluzii 1 (Inhibitori de glicozidaze)

1. S-a realizat "activarea" conformațională a unei tiomanozide prin inversia conformației din 4C_1 în 1C_4 și s-au realizat studii 1H -RMN privind condițiile de temperatură în care conformerul 1C_4 (mai reactiv) devine predominant.
2. S-a realizat cu succes sinteza stereoselectivă a tiomanozidei ca donor de glicozil "puternic activat" din punct de vedere conformațional (compusul **76**).
3. S-au investigat condițiile optime (catalizator, solvent și temperatură) necesare controlului stereochimiei în direcția formării unei β -manozide, utilizând ca și acceptor de glicozil *n*-octanolul.
4. S-a realizat un studiu preliminar al condițiilor de cuplare a tiomanozidei sintetizate "puternic activată" (ca donor de glicozil) cu glicozil acceptorul "activat" (sintetizat de asemenea în cadrul grupului) în vederea obținerii β -manozidei ca și compus cu importanță biologică (compusul **82**).

Această parte a tezei a fost realizată într-un stagiu Marie Curie în perioada 2003-2004 la: Aarhus University - DENMARK. Faculty of Chemistry. The Bioorganic Chemistry Group (Group Leader: Prof. Dr. Mikael Bols)

2.4. Experimental (Mod de lucru și proceduri):

General (Reactivi, Aparatură, Proceduri, Analize)

Reacțiile sensibile la umezeală s-au realizat în atmosferă de N_2 sau de Ar (după caz) cu solvenți uscați în prealabil conform uzanțelor cunoscute (cu sită moleculară pulbere (4 Å) în prealabil activată). Sticlăria a fost uscată sub flacără înainte de pornirea sintezelor, sau dacă este altfel specificat: 24 ore în etuvă la 120°C. Compușii și reactivii disponibili comercial au fost folosiți fără purificări suplimentare. Evaporarea s-a realizat cu un evaporator sub vid prin păstrarea temperaturii băii până la cel mult 40°C. Pentru coloanele cromatografice FC s-a folosit silicagel Merck 60 (230-400 mesh) ca și fază staționară. Plăcuțele TLC (Merck, 60, F254) au fost vizualizate (cu excepția cazurilor când s-a specificat altfel) prin imersie în amestec de sulfat de ceriu (1%) și acid molibdenic (1.5%) în 10% H_2SO_4 și încălzire apoi până la apariția unor spoturi colorate. TLC pentru compușii ce conțin duble legături conjugate s-au efectuat pe plăci cu indicator de fluorescență (Merck, 60, F254) și au fost vizualizate la o lampă UV. Spectrele RMN au fost înregistrate pe un spectrometru Varian 400MHz în $CDCl_3$ sau D_2O după caz. Deplasările chimice sunt exprimate în ppm, iar constantele de cuplaj în Hz. Pentru spectrele ^{13}C -RMN în D_2O , ca referință internă a fost folosit MeOH (δ 49.5). Spectrele MS au fost înregistrate pe un spectrometru Micromass LC-TOF.

Sinteza penta acetil α -D-manozei (**84**) [$C_{16}H_{22}O_{11}$]

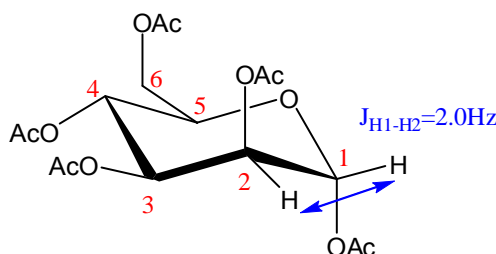


Figura 2-41. α -D-manoză

Mod de lucru: Într-un balon cu agitator magnetic se suspendă 5g D-manoză (27.8×10^{-3} moli) în 25ml (10 eq, 270×10^{-3} moli) Ac_2O și se lasă apoi sub agitare la temperatura camerei. Se adaugă 0.250g I_2 și se continuă agitarea la temperatura camerei până ce controlul TLC arată consumarea manozei. Amestecul de reacție se diluează apoi într-o pâlnie de separare cu 200ml DCM și se spală succesiv cu soluție de tiosulfat de Na (1g $Na_2S_2O_3$, 100 ml soluție) și de carbonat de Na (1g Na_2CO_3 , 100 ml soluție). Faza organică se usucă pe Na_2SO_4 și apoi se concentrează la evaporatorul sub vid până se obține un sirop subțire. Produsul obținut (9.91g, η = 92 %) este suficient de pur pentru a putea fi utilizat în reacția următoare fără purificări suplimentare prin FC

CSS: AcOEt:Pentan 1:1 (R_f = 0.66), vizualizare prin dezvoltare cu [(1.5%) H_2MoO_7 + (1%) $Ce(SO_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

$^1\text{H-RMN}$: (400MHz, CDCl_3) δ_{H} : 6.08, 6.09(1H, d, $J=2.0\text{Hz}$, H_1), 5.34, 5.35, 5.36(1H, t, H_2), 5.26, 5.27(2H, d, CH_2), 4.26, 4.27, 4.29, 4.30(1H, dd, H_4), 4.08, 4.09, 4.11, 4.12(1H, dd, H_3), 4.05(1H, m, H_5), 2.22(3H, s, COOCH_3), 2.22(3H, s, COOCH_3), 2.17(3H, s, COOCH_3), 2.10(3H, s, COOCH_3), 2.05(3H, s, COOCH_3), 2.01(3H, s, COOCH_3)

Obs.: Poziția α a OAc este confirmată de constanta de cuplaj a lui H_1 ($J=2.0\text{Hz}$) care este corespunzătoare poziției e-e a celor 2 atomi de H (H_1 și H_2).

Sinteza *p*-metilfenil- 2, 3, 4, 6-tetra-O-acetil-1-tio- α -D-manopiranozidei (85**) [$\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_9\text{S}$]**

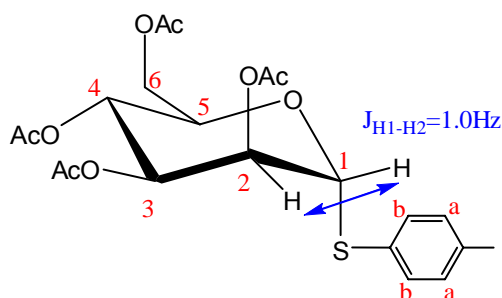


Figura 2-42. *p*-metilfenil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio- α -D-manopiranozidă

Mod de lucru: La un amestec de pentaacetil D-manoză (9.91 g, 25.4×10^{-3} moli) și *p*-tio-crezol (4.73 g, 38.12×10^{-3} moli, 1.5 eq) în DCM (100 ml proaspăt distilat) aflat sub agitare sub atmosfera de Ar, s-a adăugat $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (3.9 ml, 1.3 eq). Amestecul se lasă sub agitare sub atmosfera de Ar la temperatura camerei. După ce controlul CSS indică sfârșitul reacției, amestecul de reacție se diluează cu DCM (100 ml) și se spală apoi cu o soluție saturată de NaHCO_3 (2 x 75 ml) și cu apă (50 ml). Faza organică se usucă pe Na_2SO_4 iar solventul se evaporă apoi la evaporator, sub vid, obținându-se un amestec sub formă de clei ce urmează a fi supus purificării prin FC.

CSS: Pentan:AcOEt = 3:1 ($R_f = 0.31$), vizualizare la lampa cu UV și apoi prin dezvoltare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan : AcOEt 3:1

$^1\text{H-RMN}$: (400MHz, CDCl_3) δ_{H} : 7.38(2H, d, H-b), 7.12(2H, d, H-a), 5.42-5.43(1H, dd, H_2), 5.34-5.35(1H, d, $J=1.0\text{Hz}$, H_1), 5.24-5.26(2H, d, CH_2), 4.46-4.51(1H, m, H_5), 4.21-4.26(1H, dd, H_4), 4.02-4.06(1H, dd, H_3), 2.26(3H, s, Ph-CH_3), 2.07(3H, s, COOCH_3), 2.01(3H, s, COOCH_3), 1.99(3H, s, COOCH_3), 1.94(3H, s, COOCH_3)

MS (TOF MS ES^+): m/z teoretic pentru $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_9\text{SNa}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$] 477.1195, găsit: 477.1193

Obs.: Poziția α a OAc este confirmată de constanta de cuplaj a lui H_1 ($J=1.0\text{Hz}$) care este cea corespunzătoare poziției e-e a celor 2 atomi de H (H_1 și H_2)

Sinteza *p*-metilfenil-2,3,4,6-tetra-hidroxi-1-tio- α -D-manopiranozidei (86**) [$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$]**

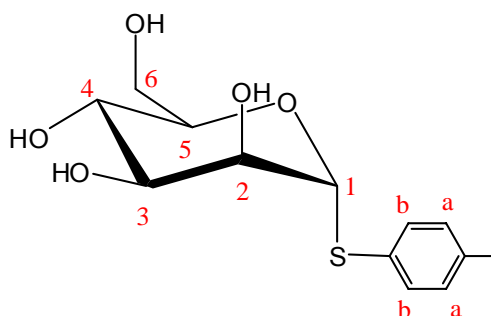


Figura 2-43. *p*-metilfenil-2,3,4,6-tetra-hidroxi-1-tio- α -D-manopiranozidă

Mod de lucru: 7.02g compus (**85**) se solubilizează într-o cantitate minimă de MeOH absolut (30 ml). Se adaugă Na metallic și se lasă amestecul sub agitare la temperatura camerei până ce controlul TLC indică consumarea materialului de start. Se adaugă apoi în porții amberlit IR120 (înmuiat în prealabil 15-30 min. în MeOH) până la pH=7. Se filtrează amestecul și se evaporă solventul. Se obține un amestec de compuși sub forma unui sirop maro. Compusul complet deacetilat urmează a fi separat și purificat prin FC.

CSS: AcOEt : MeOH 95:5 (R_f = 0.33 pentru compusul complet deacetilat), vizualizare la lampa cu UV și apoi prin dezvoltare cu [(1.5%) $H_2Mo_2O_7$ + (1%) $Ce(SO_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: AcOEt : MeOH 95:5

1H -RMN: (400MHz, D_2O) δ_H : 7.35, 7.38(2H, d, $J=10$ Hz, H-b(din Ph)), 7.13, 7.16(2H, d, $J=9$ Hz, H-a(din Ph)), 5.34(1H, d, H1), 4.03-4.09(2H, 2xddd, H_{6a}, H_{6b}), 3.52-3.76(4H, m, H2, H3, H4, H5), 3.25(4H, s, -OH), 2.22(3H, s, Ph-CH₃),

MS (TOF MS ES^+): m/z teoretic pentru $C_{13}H_{18}O_5SNa$ [$M + Na^+$] 309.0773, găsit: 309.0777

Sinteza *p*-metilfenil -2,3,4,6-tetra-O -tert-butil dimetil silil -1-tio - α -D-manopiranozidei (**87**)

Mod de lucru: Într-un balon scufundat în gheață se adaugă 1g compus (**86**) și 12ml piridină (până la solubilizarea compusului). Apoi se mai adaugă 0.042 g 4-DMAP (0.35×10^{-3} moli, 0.1 eq). În amestec (sub agitare la 0 °C) se adaugă apoi 7.4ml (27.9×10^{-3} moli, 8 eq.) TBDMSTf. Se lasă reacția sub agitare la 0 °C timp de 20 min. și apoi 48 de ore la temperatura camerei. După ce controlul TLC indică consumarea materialului de start, se diluează amestecul de reacție cu aproximativ 10 ml MeOH și apoi se concentrează la evaporator. Peste reziduul obținut se adaugă DCM (100 ml) și se spală succesiv cu o soluție saturată de $NaHCO_3$ (100 ml) și cu apă (100 ml). Faza organică se usucă pe Na_2SO_4 iar solventul se evaporă apoi la evaporatorul sub vid obținându-se produsul crud de reacție sub formă de clei ce urmează a fi supus purificării prin FC. Se obțin 2.08 g (2.8×10^{-3} moli, η = 80.3%) produs de reacție.

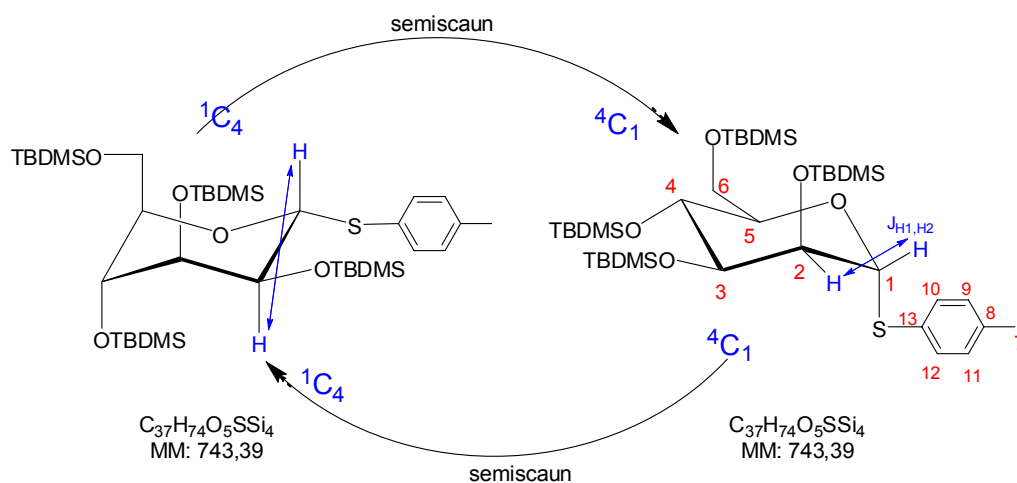


Figura 2-44. *p*-metilfenil-2,3,4,6-tetra-*O*-tert-butil dimetil silil-1-tio- α -*D*-manopiranozidă

CSS: AcOEt : MeOH 95:5 ($R_f = 0.80$), vizualizare la lampă cu UV și apoi prin dezvoltare cu [(1.5%) $H_2Mo_2O_7$ + (1%) $Ce(SO_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan : Tol 87:13

1H -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $26^\circ C$) δ_H : 7.39, 7.40 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-b(din Ph)), 7.02, 7.04 (2H, d, $J=8.0$ Hz, H-a(din Ph)), 5.15 (1H, d, H1 din conformerul 4C_1 , $J=4.8$ Hz), 5.09 (1H, d, H1 din conformerul 1C_4 , $J=6.6$ Hz), 4.01-4.04 (2H, dd, H6a, dd, H6b), 3.64-3.84 (4H, m, H2, H3, H4, H5), 2.28(3H, s, Ph-CH₃), 0.84, 0.85, 0.87, 0.88 (36H, 4s, Si-C(CH₃)₃), 0.00, 0.04, 0.06, 0.07 (24H, 4s, Si-(CH₃)₂)

1H -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $-50^\circ C$): 5.16 (1H, d, H1 din conformerul 4C_1 , $J=1.6$ Hz), 5.11, 5.09 (1H, d, H1 din conformerul 1C_4 , $J=8.8$ Hz)

1H -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $-20^\circ C$): 5.17 (1H, d, H1 din conformerul 4C_1 , $J=1.6$ Hz), 5.11, 5.09 (1H, d, H1 din conformerul 1C_4 , $J=8.8$ Hz)

1H -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $+26^\circ C$): 5.15 (1H, d, H1 din conformerul 4C_1 , $J=4.8$ Hz), 5.09, 5.12 (1H, d, H1 din conformerul 1C_4 , $J=6.6$ Hz)

1H -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $+60^\circ C$): 5.17, 5.16 (1H, d, H1 din conformerul 4C_1 , $J=6.4$ Hz), 5.13, 5.12 (1H, d, H1 din conformerul 1C_4 , $J=4.3$ Hz)

^{13}C -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $+26^\circ C$) δ_H : 155.06 (1C, C8 din Ph), 141.92 (1C, C13 din Ph), 137.16 (2C, C10 și C12 din Ph), 134.67 (2C, C9 și C11 din Ph), 76.11-93.83 (5C, C1, C2, C3, C4, C5 - semnale f. slabe), 68.57 (1C, C6), 31.29 (12C, O-Si-C(CH₃)₃), 26.33 (S-Ph-CH₃), 23.45 (O-Si-C(CH₃)₃), 1.05 (8C, O-Si-(CH₃)₂)

MS (TOF MS ES⁺): m/z teoretic pentru $C_{37}H_{74}O_5SSi_4Na$ [$M + Na^+$] 765.4232, găsit: 765.4235

Notă explicativă: - numărul dublu de semnale din spectru la H1 indică existența celor 2 conformeri 4C_1 și 1C_4 ai compusului în produsul de reacție.

Cuplare tiomanozidă cu *n*-octanol (88**)** [$C_{38}H_{84}O_6Si_4$] vezi **Figura 2-35**.

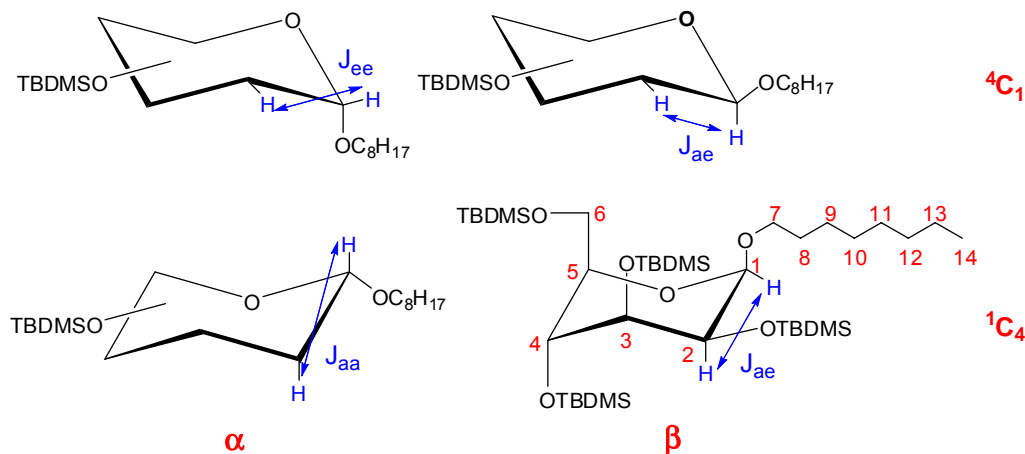


Figura 2-45. 2,3,4,6-tetra-O-tert-butyl dimetil silil-1-n-octil- α -D-manopiranozidă

Procedura generală de glicozilare:

Balonul de reacție cu agitatorul magnetic a fost în prealabil ținut 24 ore în etuvă la 120 °C apoi răcit în exicator cu P₂O₅ și în final spălat cu Ar. Toți solvenții utilizați au fost uscați pe sită moleculară.

La un amestec de acceptor de glicozil (*n*-octanol) răcit la -40 °C (1.5 eq), se adaugă 1.0 eq donor de glicozil (tio manozida **87**), 1.6 eq NIS și sită moleculară 4Å și cu o seringă DCM proaspăt distilat (sub N₂). Se lasă 20 min. sub agitare iar apoi se adaugă 0.015 eq TfOH. Amestecul se lasă sub agitare aproximativ 30 min. la -20 °C și se aduce apoi gradat la temperatura camerei. Avansarea reacției se monitorizează prin TLC. După ce reacția este gata, se stopează prin adăugare de Et₃N iar apoi amestecul de reacție se diluează cu DCM și se filtrează pe celită. În continuare se concentrează la evaporator sub vid, iar în final reziduul obținut se supune purificării prin FC pentru obținerea produsului de reacție dorit.

Obs.: - Condițiile de glicozilare pentru toate cele 17 metode de lucru de mai jos sunt sumarizate în **Tabelul 2-4** (cap. 2.2.3.3, Catalizatori și solvenți folosiți în reacția de glicozilare cu *n*-octanol)

Metoda 1: NIS/TfOH, CH₂Cl₂

Peste un amestec de 0.100g (0.135x10⁻³ moli, 1eq) tioglicozida (**87**) și 0.020g (0.148x10⁻³ moli, 1.1eq) *n*-octanol dizolvat în 1.5ml DCM (uscat) la temperatura camerei sub atmosfera de Ar se adaugă sită moleculară pulbere (4Å) în prealabil activată. Se adaugă apoi 0.077 g (0.337x10⁻³ moli, 2.5eq) NIS. În continuare se adaugă în picături o soluție saturată (cca. 0.15M) de TfOH în DCM (uscat) până ce controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15, R_f produs de reacție = 0.89) indică consumarea totală a tioglicozidei. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale. După separarea prin FC se obține o cantitate nesemnificativă de produs de reacție.

CSS: Pentan : Tol 85:15 ($R_f = 0.89$), vizualizare prin developare cu [(1.5%) $H_2Mo_2O_7 + (1\%) Ce(SO_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan : Tol 93:7

1H -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $26^\circ C$) δ_H : 4.55, 4.54 (1H, d, H_1 din anomerul α , $J=5.2Hz$), 4.44, 4.43 (1H, d, H_1 din anomerul β , $J=2.4Hz$), 3.19-4.14 (8H, m, H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , CH_2 -OTBDMS, O- CH_2 -(CH_2) $_6$ - CH_3), 1.46-1.56 (2H, tt, O- CH_2 - CH_2 -(CH_2) $_5$ - CH_3), 1.21-1.29 (10H, m, O- CH_2 - CH_2 -(CH_2) $_5$ - CH_3), 0.84-0.87 (36H, 4s, Si-C(CH_3) $_3$), 0.82(3H, t, O-(CH_2) $_7$ - CH_3), 0.03-0.06 (24H, m, Si(CH_3) $_2$)

Notă explicativă: Datorită existenței celor 2 conformeri (4C_1 și 1C_4), protonii din intervalul 3.19-4.14 dau un număr dublu de semnale în spectrul 1H -RMN.

^{13}C -RMN: (400MHz, $CDCl_3$, $26^\circ C$) δ_H : 105.0 (1C, C_1), 75.5, 84.0 (4C, C_2 , C_3 , C_4 , C_5), 75.0 (1C, C_6), 69.0 (1C, C_7), 37.5, 35.3, 35.2, 35.1, 35.0, 32.0 (6C, C_8 , C_9 , C_{10} , C_{11} , C_{12} , C_{13}), 32.0 (12C, Si-C(CH_3) $_3$), 23.0-24.0 (4C, Si- $C(CH_3)_3$), 0.8-1.7 (8C, Si(CH_3) $_2$)

MS (TOF MS ES^+): m/z găsit pentru $C_{38}H_{84}O_6Si_4Na$ [$M + Na^+$]: 772.1

Metoda 2: NIS, CH_2Cl_2 , r.t.

La un amestec de 0.100 g (0.135×10^{-3} moli, 1eq) tioglicozida (**87**) și 0.020g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol dizolvat în 1.5 ml DCM (uscat) aflate la temperatura camerei sub atmosfera de Ar se adaugă sită moleculară pulbere (4\AA) în prealabil activată. Se adaugă apoi 0.077 g (0.337×10^{-3} moli, 2.5eq) NIS. Se lasă apoi amestecul sub agitare la r.t. (temperatura camerei) până ce controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15, R_f produs de reacție = 0.89) indică consumarea tioglicozidei. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

CSS: Pentan : Tol 85:15 ($R_f = 0.89$), vizualizare prin developare cu [(1.5%) $H_2Mo_2O_7 + (1\%) Ce(SO_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan : Tol 93:7

Metoda 3: NIS (adăugare în porții), CH_2Cl_2 , r.t.

Într-un balon cu agitator magnetic se dizolvă 0.100g (0.135×10^{-3} moli, 1eq) tioglicozidă (**87**) și 0.020g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol în 2ml DCM (uscat). Se adaugă sită moleculară pulbere (4\AA) în prealabil activată iar apoi sub atmosferă de Ar în amestecul de reacție aflat la temperatura camerei se adaugă NIS în porții de 5mg la următoarele intervale de timp: după 5 min., 15 min., 35 min., 45 min. iar apoi în porții de câte 10 mg după 1h15min, 2h15min, 4h. După 4h controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15) încă nu arată nici un progres al reacției. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

MS (TOF MS ES^+): m/z găsit: 657.5 (corespunzător pentru $C_{30}H_{67}O_6Si_4Na$ [$M + Na^+$])

Obs.: La adăugarea repetată de NIS balonul a fost deschis de prea multe ori, amestecul de reacție fiind prea des în contact cu aerul astfel că reacția dorită nu a mai avut loc. (**Figura 2-46**).

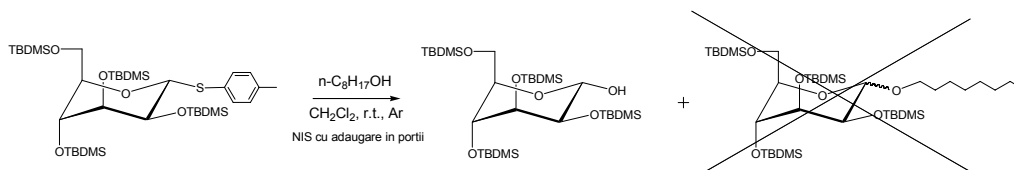


Figura 2-46. Glicozilarea tioglicozidei cu NIS în condițiile Metodei 3 conduce la obținerea produșilor secundari ca și compuși majoritari în reacție.

Metoda 4: NIS, CH_2Cl_2 , 40°C

La un amestec de 0.100 g (0.135×10^{-3} moli, 1eq) tioglicozida (**87**) și 0.020g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol dizolvat în 1.5ml DCM (uscat) aflate sub atmosferă de Ar se adaugă sită moleculară pulbere (4\AA) în prealabil activată. Se încălzește amestecul la 40°C și se adaugă apoi 0.077g (0.337×10^{-3} moli, 2.5eq) NIS. Se lasă apoi amestecul sub agitare la 40°C până ce controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15, R_f produs de reacție = 0.89) indică consumarea tioglicozidei. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

CSS: Pentan : Tol 85:15 (R_f = 0.89), vizualizare prin developare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan : Tol 93:7

Metoda 5: NIS, MeCN, 60°C

Peste un amestec de 0.100g (0.135×10^{-3} moli, 1eq) tioglicozida (**87**) și 0.020 g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol dizolvați în 1.5ml MeCN (uscat), aflat sub atmosferă de Ar, se adaugă sită moleculară pulbere (4\AA) în prealabil activată. Se încălzește amestecul de reacție la 60°C și se adaugă 0.077 g (0.337×10^{-3} moli, 2.5 eq) NIS. Amestecul de reacție se colorează imediat în cărămiziu ceea ce indică faptul că reacția a avut loc aproape instantaneu. Sfârșitul reacției este confirmat și de controlul TLC (Pentan:Tol = 85:15, R_f produs de reacție = 0.89) prin care se confirmă consumarea integrală a tioglicozidei. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

CSS: Pentan : Tol 85:15 (R_f = 0.89), vizualizare prin developare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan : Tol 93:7

Metoda 6: NIS, Et_2O

Într-un balon cu agitator magnetic s-au adăugat: 0.095g (0.128×10^{-3} moli) tioglicozidă (**87**), 22.0 μl (1.1eq, 0.14×10^{-3} moli) n-octanol, 2.5ml Et_2O și sită moleculară activată (4\AA). Peste amestecul aflat sub atmosferă de Ar se adaugă 72mg (2.5eq, 0.32×10^{-3} moli) NIS. După aproximativ 10 minute controlul TLC arată sfârșitul reacției. Se stopează reacția prin adăugare de 0.2ml Et_3N , se diluează amestecul cu DCM și se filtrează apoi pe celită. Reziduul obținut se supune purificării prin FC.

Metoda 7: NIS, CH_2Cl_2 , -78°C

Într-un balon cu agitator magnetic se dizolvă 0.100g (0.135×10^{-3} moli, 1eq) tioglicozidă (**87**) și 0.020g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol în 2ml DCM (uscat). Se adaugă sită moleculară pulbere (4Å) în prealabil activată iar apoi sub atmosferă de Ar în amestecul de reacție răcit la -78°C se adaugă 0.077g (0.337×10^{-3} moli, 2.5eq) NIS. Se lasă apoi reacția sub agitare la -78°C și se monitorizează evoluția reacției prin control TLC. După câteva ore la -78°C controlul TLC arată că reacția nu are loc, posibil datorită faptului că n-octanolul este sub formă solidă la -78°C (p.t. = -15°C). Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

Metoda 8: NIS, CH_2Cl_2 , $-10^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$

Într-un balon cu agitator magnetic se dizolvă 0.100 g (0.135×10^{-3} moli, 1 eq) tioglicozida (**87**) și 0.020 g (0.148×10^{-3} moli, 1.1 eq) n-octanol în 2 ml DCM (uscat). Se adaugă sită moleculară pulbere (4 Å) în prealabil activată iar apoi sub atmosferă de Ar în amestecul de reacție răcit la -78°C se adaugă 0.077g (0.337×10^{-3} moli, 2.5 eq) NIS. Se schimbă baia de răcire cu o baie de gheață și se lasă apoi reacția sub agitare până temperatura urcă la $-10^\circ\text{C} \rightarrow 0^\circ\text{C}$ (p.t. pentru n-octanol este -15°C), monitorizându-se prin control TLC. După ce controlul TLC indică consumarea tioglicozidei, prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

Metoda 9: NIS, MeNO_2/Tol (2:1), 0°C

0.020g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol se dizolvă într-un amestec de solvenți (2ml MeNO_2 + 1ml Tol) și se răcește la 0°C . Apoi se adaugă sită moleculară pulbere (4 Å) în prealabil activată și sub atmosferă de Ar încă 0.100 g (0.135×10^{-3} moli, 1 eq) de tioglicozida (**87**). Se mai adaugă apoi 0.077 g (0.337×10^{-3} moli, 2.5 eq) NIS în amestecul aflat la 0°C . La aproximativ 2-3 minute după adăugarea NIS, amestecul de reacție se colorează în cărămiziu, ceea ce indică faptul că reacția nu mai este instantanee. Controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15, R_f produs de reacție = 0.89) indică consumarea totală a tioglicozidei. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

CSS: Pentan : Tol 85:15 (R_f = 0.38 pentru primul spot de sus în jos), vizualizare prin dezvoltare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

Metoda 10: NIS, MeCN/Tol (2:1), 0°C

Într-un balon cu agitator magnetic se dizolvă 0.020 g (0.148×10^{-3} moli, 1.1 eq) n-octanol în 2 ml MeCN/1 ml Tol (uscat). Se adaugă sită moleculară pulbere (4 Å) în prealabil activată iar apoi sub atmosferă de Ar încă 0.100 g (0.135×10^{-3} moli, 1 eq) de tioglicozidă (**87**). Se mai adaugă apoi 0.077 g (0.337×10^{-3} moli, 2.5 eq) NIS în amestecul aflat la 0°C . După aproximativ 3-4 minute de la adăugarea NIS, amestecul de reacție se colorează în brun-roșcat. Controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15, R_f produs de reacție = 0.89) arată consumarea integrală a tioglicozidei. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale. Tioglicozida nu este solubilă în MeCN decât la cald.

Metoda 11: NIS, CH₂Cl₂/MeCN, r.t.

Într-un balon cu agitator magnetic se dizolvă 0.100 g (0.135×10^{-3} moli, 1 eq) tioglicozidă (**87**) și 0.020 g (0.148×10^{-3} moli, 1.1eq) n-octanol în 2 ml DCM (uscat). Se adaugă sită moleculară pulbere (4 Å) în prealabil activată iar apoi sub atmosferă de Ar în amestecul de reacție aflat la temperatura camerei se adaugă o soluție de NIS solubilizată în MeCN (uscat). Soluția de NIS în MeCN (uscat) se adaugă în amestecul de reacție la un debit de 0.2 ml/h cu o micropompă. După 2h controlul TLC (Pentan: Tol = 85:15) indică sfârșitul reacției. Prelucrarea reacției se face conform procedurii generale.

Metoda 12: DMTST/Et₂O

Într-un balon cu agitator magnetic aflat sub atmosferă de Ar s-au adăugat: 0.100 g (0.140×10^{-3} moli) tioglicozidă (**87**), 26 μ l (1.2 eq, 0.168×10^{-3} moli) n-octanol, 2 ml Et₂O și sită moleculară activată de 4 Å. Peste amestecul aflat sub atmosferă de Ar se adaugă ~53 mg (4 eq, 0.561×10^{-3} moli) DMTST. După 48 h controlul TLC nu arată un progres semnificativ al reacției, astfel că se stopează prin adăugare de 0.3 ml TEA. Amestecul de reacție se diluează apoi cu DCM și se filtrează pe celită. Reziduul obținut se supune purificării prin FC.

Metoda 13: DMTST, CH₂Cl₂

Într-un balon cu agitator magnetic s-au adăugat: 0.094 g (0.127×10^{-3} moli) tioglicozidă (**87**), 24.0 μ l (1.2 eq, 0.15×10^{-3} moli) n-octanol, 2.5 ml DCM(uscat) și sită moleculară activată (4 Å). Peste amestecul aflat sub atmosferă de Ar se adaugă 0.070 g (6 eq, 0.478×10^{-3} moli) DMTST. După 45 min. după controlul TLC, peste amestecul de reacție se adaugă 0.3 ml TEA. Amestecul de reacție se diluează apoi cu DCM și se filtrează pe celită. Reziduul obținute se supune purificării prin FC însă se obține o cantitate nesemnificativă de produs de reacție, reacția având loc cu un randament foarte mic.

Metoda 14: DMTST, CH₂Cl₂/MeCN

Într-un balon cu agitator magnetic s-au adăugat: 0.090 g (0.120×10^{-3} moli) tioglicozidă (**87**), 22.5 μ l (1.2 eq, 0.14×10^{-3} moli) n-octanol, 2.5 ml MeCN (uscat), 1 ml DCM (uscat) și sită moleculară activată (4 Å). Peste amestecul aflat sub atmosferă de Ar se adaugă 45 mg (4 eq, 0.478×10^{-3} moli) DMTST. După 24 h controlul TLC nu arată un progres semnificativ al reacției, astfel că se stopează prin adăugare de TEA.

Metoda 15: DMTST/DTBMP, CH₂Cl₂

În 2 ml DCM (uscat) la care s-au mai adăugat 0.3 g sită moleculară pulbere (4 Å) s-au solubilizat 63 mg (85 μ moli) (**87**), 16.0 μ l (1.2eq, 0.10×10^{-3} moli) n-octanol și 0.017g (1.0eq, 85 μ moli) DTBMP. Amestecul de reacție s-a lăsat apoi sub agitare magnetică la temperatura camerei sub atmosferă de Ar. După 10 minute s-au

adăugat 0.029 g (0.2 moli) DMTST. Agitarea s-a continuat încă 30 min. după care s-au adăugat 0.2 ml Et₃N. Amestecul s-a diluat apoi cu DCM, s-a filtrat pe celită și s-a concentrat la rotavapor. Reziduul obținut s-a supus purificării prin FC (Tol:AcOEt 10:1).

Metoda 16: MeOTf / Et₂O

Peste un amestec de 0.95 g (0.128 x 10⁻³ moli) tioglicozida (**87**), 17.5 μl (1.2 eq, 0.154 x 10⁻³ moli) n-octanol în 2.5 ml Et₂O cu sită moleculară 4 Å, aflat sub agitare magnetică și sub atmosfera de Ar la temperatura camerei se adaugă 60 μl (4 eq, 0.55 x 10⁻³ moli) MeOTf. După 24 h s-au mai adăugat 50 μl MeOTf iar după 48 h încă 100 μl MeOTf. După 72 h controlul TLC încă nu indică un progres semnificativ al reacției. Reacția se stopează prin adăugare de TEA.

Metoda 17: Selectfluor/MeCN

Un amestec de 0.100 g (0.135 x 10⁻³ moli) tioglicozidă (**87**) și 25.0 μl (1.2 eq, 0.16 x 10⁻³ moli) n-octanol în 5 ml MeCN(uscă) cu sită moleculară pulbere (4 Å) s-a agitat sub Ar aproximativ 15 min. la 0 °C. Apoi s-au adăugat 24.0 μl BF₃.Et₂O (1.5 eq) și 0.072 g Selectfluor (1.5 eq, 0.20 x 10⁻³ moli). Se mai lasă sub agitare 15 min. la 0 °C iar după controlul TLC se adaugă 0.20 g NaHCO₃ și se mai agită încă 5 min. Se diluează apoi amestecul cu DCM și Et₂O și se filtrează pe celită. Reziduul obținut se supune purificării prin FC însă după separare se obține o cantitate nesemnificativă de produs de reacție, reacția având loc cu un randament foarte mic.

CSS: Pentan : Tol 85:15, vizualizare prin developare cu [(1.5%) H₂Mo₂O₇ + (1%) Ce(SO₄)₂ în 10% H₂SO₄]

Sinteza DMTST (Figura 2-47) [C₄H₉F₃O₃Si₃]

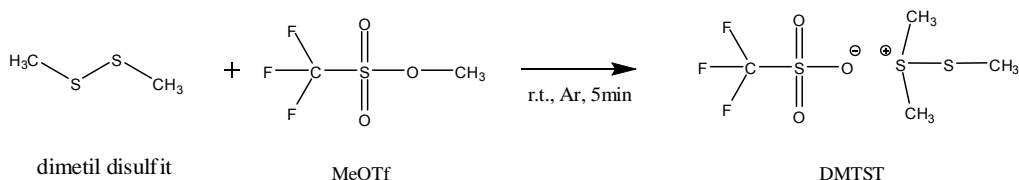


Figura 2-47. Sinteza DMTST

Mod de Lucru: Într-un balon uscat ce conține 280 μl dimetil disulfid (3.20 x 10⁻³ moli) se adaugă în picături 320 μl (2.82 x 10⁻³ moli) MeOTf. Amestecul se agită sub atmosferă de Ar timp de 5 min. la temperatura camerei. După aproximativ 5 min. se formează un precipitat incolor (DMTST). Se adaugă 1 ml DCM (uscă) și se obține o soluție stoc ce urmează a fi folosită ca atare în reacțiile de glicozilare.

Sinteza sulfoxid tiomanozidei (**89**) [C₃₇H₇₄O₆SSi₄]

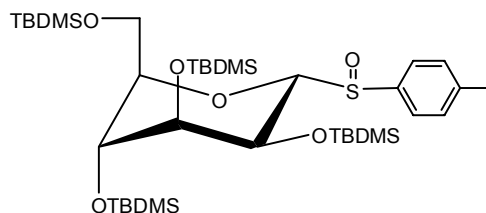


Figura 2-48. *p*-metilfenil-2,3,4,6-tetra-*O*-tert-butyl dimetil silil-1-sulfoxid- α -*D*-manopiranozidă

Mod de Lucru: La o soluție de 0.087g (0.117×10^{-3} moli) tioglicozidă (**87**) în 2 ml DCM(uscăt) răcită la -78°C se adaugă cu canula $22.15 \times 10^{-3}\text{g}$ (1.1 eq, 0.128×10^{-3} moli) *m*-CPBA solubilizați în 2ml DCM (uscăt). Temperatura se lasă să urce până la -10°C și se menține reacția sub agitare la această temperatură. Apoi după ce controlul TLC arată consumarea materialului de start se oprește reacția prin adăugarea de 50 μl DMS. Amestecul de reacție se toarnă apoi într-o pâlnie de separare cu $\text{NaHCO}_3(\text{sat.})$ și se diluează cu DCM. Faza apoasă se extrage de 3 ori cu câte 50 ml DCM. Extractul organic se usucă pe Na_2SO_4 , se filtrează și se concentrează la rotavapor. Reziduul obținut se purifică prin FC. Produsul de reacție se obține ca amestec de izomeri.

CSS: Pentan : Tol 85:15 (produsul de reacție e în start), vizualizare la lampa UV și prin dezvoltare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: Pentan: AcOEt 97:3

^1H -RMN: (400MHz, CDCl_3) δ_{H} : 8.01, 7.99 (2H, d, $\text{H-b}(\text{din Ph})$), 7.45, 7.43 (2H, d, $\text{H-a}(\text{din Ph})$), 4.96, 4.94 (1H, d, H , $J \sim 6.8\text{Hz}$, semnal dublu datorat celor 2 conformeri), 4.78-4.69 (2H, dd, H_{6a} , dd, H_{6b}), 4.53-3.73 (4H, m, H_2 , H_3 , H_4 , H_5), 2.60(3H, s, Ph-CH_3), 1.18-0.98 (36H, m, $\text{Si-C}(\text{CH}_3)_3$), 0.46-0.08 (24H, m, $\text{Si-(CH}_3)_2$)

MS (TOF MS ES^+): m/z teoretic pentru $\text{C}_{37}\text{H}_{74}\text{O}_6\text{Si}_4\text{SK}$ [$\text{M} + \text{K}^+$] 797.3920, găsit: 797.3942, m/z teoretic pentru $\text{C}_{37}\text{H}_{74}\text{O}_6\text{Si}_4\text{SNa}$ [$\text{M} + \text{Na}^+$] 781.4181, găsit: 797.4188

Notă explicativă: Datorită existenței celor 2 conformeri ($^4\text{C}_1$ și $^1\text{C}_4$), protonii H_1 - H_6 dau un număr dublu de semnale în spectrul ^1H -RMN.

Cuplare sulfoxid cu *n*-octanol (**88**) [$\text{C}_{38}\text{H}_{84}\text{O}_6\text{Si}_4$]

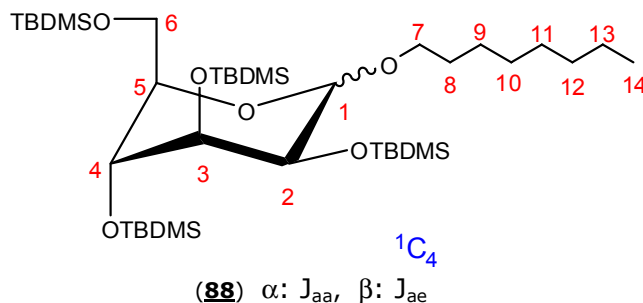


Figura 2-49. 2,3,4,6-tetra-*O*-tert-butyl dimetil silil-1-*n*-octil- α -*D*-manopiranozidă

Metoda 1: DTBMP, DCM

La un amestec de 0.063 g (0.083×10^{-3} moli) sulfoxid (**89**) și 0.034 g DTBMP (2eq, 0.166×10^{-3} moli) în 3 ml DCM(uscăt) răcit la -78°C se adaugă sub atmosferă de Ar 15.4 μl (1.1eq, 0.091×10^{-3} moli) TiF_2O . După 5 minute de agitare se adaugă 26 μl (2.0 eq, 0.166×10^{-3} moli) n-octanol și se lasă amestecul de reacție să ajungă treptat până la 0°C unde se menține apoi 30 min. După ce controlul TLC arată consumarea materialului de start se diluează amestecul cu DCM și se adaugă într-o pâlnie de separare peste NaHCO_3 . Se mai spală amestecul și cu saramură (NaCl sat). Faza organică se usucă pe Na_2SO_4 , apoi se filtrează și se concentrează la evaporator. Reziduul obținut se supune purificării prin FC. Se obține produsul de reacție sub formă de amestec de izomeri.

CSS: Pentan : AcOEt 95:5, vizualizare prin dezvoltare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

FC: AcOEt: Pentan 1:1

Metoda 2: DTBMP, $\text{Et}_2\text{O}/\text{C}_6\text{H}_6$ (7:1, v/v)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 0.075 g (0.1×10^{-3} moli) sulfoxid (**89**) se adaugă sub atmosferă de Ar, 0.041 g DTBMP (2eq, 0.166×10^{-3} moli), 4.9 ml Et_2O (uscăt)/0.7 ml C_6H_6 (7:1, v/v). Amestecul de reacție aflat sub atmosferă de Ar se răcește la -78°C și se agită 5 min. Se adaugă apoi 18 μl (1.1 eq, 0.109×10^{-3} moli) TiF_2O . După încă 5 min. de agitare se mai adaugă un amestec de 31 μl (2.0 eq, 0.166×10^{-3} moli) n-octanol în Et_2O și se lasă să crească temperatura treptat până la 0°C . Se menține apoi reacția sub agitare timp de 30 min. la 0°C . După ce controlul TLC arată consumarea materialului de start se diluează amestecul cu Et_2O și se adaugă într-o pâlnie de separare peste NaHCO_3 . Se mai spală amestecul și cu saramură (NaCl sat). Faza organică se usucă pe Na_2SO_4 , apoi se filtrează și se concentrează la rotavapor. Reziduul obținut se supune purificării prin FC. Produsul de reacție se obține sub formă de amestec de izomeri însă reacția are un randament scăzut.

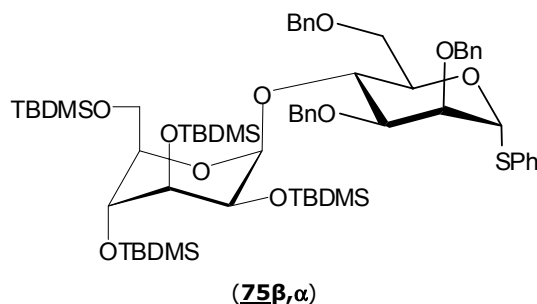
Sinteza β -manopiranozidei țintă (82**):** $[\text{C}_{63}\text{H}_{100}\text{O}_{10}\text{Si}_4]$ 

Figura 2-50. β -manopiranoză (compusul țintă de sintetizat în cadrul acestei părți experimentale)

Mod de Lucru: Într-un balon, cu agitator magnetic, ce conține 0.053 g (0.077×10^{-3} moli) tioglicozidă (**87**) s-a adăugat sub atmosferă de Ar 1 ml DCM (uscat). În paralel s-au solubilizat 0.050 g (1.2 eq, 0.092×10^{-3} moli) compus (**81**) (acceptorul de glicozil) în 1 ml DCM (uscat) și apoi s-au adăugat în balonul de reacție. Se mai adaugă apoi în balonul de reacție sită moleculară pulbere (activată, 3 Å) și 0.043 g (2.5 eq, 0.192×10^{-3} moli) NIS. După ce controlul TLC (Pentan:Tol = 85:15) indică consumarea tioglicozidei, peste amestecul de reacție se adaugă $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, NaHCO_3 și apă. Se agită amestecul ~5 min., se diluează cu DCM, se filtrează și se spală succesiv cu soluție saturată de NaHCO_3 și saramură. Faza organică se usucă pe Na_2SO_4 (sau MgSO_4) și apoi se concentrează la evaporatorul sub vid. În final, reziduul obținut a fost analizat prin RMN și MS pentru a se identifica dacă reacția a avut loc, urmând ca mai apoi să fie supus purificării prin FC.

TLC: Pentan : AcOEt 95:5, vizualizare prin dezvoltare cu [(1.5%) $\text{H}_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + (1%) $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ în 10% H_2SO_4]

^1H -RMN: (400MHz, CDCl_3), **^{13}C -RMN:** (400MHz, CDCl_3), **MS** (TOF MS ES^+): doar pentru controlul reacției

2.5. Bibliografie

- [1] Legler, G, *Adv Carbohydr Chem Biochem*, 48, 319 – 385, **1990**;
- [2] Sinnott, M L, *Chem. Rev.*, 90, 1171 – 1202, **1990**;
- [3] Ly, H, Withers, S G, *Annu. Rev. Biochem.*, 68, 487 – 522, **1999**;
- [4] Heightmann, T D, Vasella, A T, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 38, 750 – 770, **1999**;
- [5] Vasella, A, Davies, G J, Bohm, M, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 6, 619 – 629, **2002**.
- [6] Truscheit, E, Frommer, W, Junge, B, Muller, L, Schmidt, D D, Wingender, W, *Angew. Chem.*, 93, 738 – 755, **1981**.
- [7] de Clercq, E, *J. Clin. Virol.*, 22, 73 – 89, **2001**.
- [8] Zitzmann, N, Mehta, A S, Carrouee, S, Butters, T D, Platt, F M, McCauley, J, Blumberg, B S, Dwek, R A, Block, T M, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96, 11878 – 11882, **1999**.
- [9] Asano, N, *J. Enzyme Inhib.*, 15, 215 – 234, **2000**;
- [10] Wrodnigg, T M, *Monatshefte fur Chemie*, 133, 393 – 426, **2002**;
- [11] Lillelund, V H, Jensen, H H, Liang, X, Bols, M, *Chem. Rev.*, 102, 515 – 553, **2002**.
- [12] Dwek, R A, *Chem. Rev.*, 96, 683 – 720, **1996**.
- [13] Varki, A, *Glycobiology*, 3, 97 – 130, **1993**.
- [14] Sharon, N, *Complex Carbohydrates. Their Chemistry, Biosynthesis and Functions*, Addison-Wesley, Reading, MA, USA, **1975**, pp. 6 – 9.
- [15] Matsuzaki, Y, Ito, Y, Nakahara, Y, Ogawa, T, *Tetrahedron Lett.*, 34, 1061 – 1064, **1993**.

- [16] Daniel E. Levy, Péter Fugedi, *The Organic Chemistry of Sugars*, CRC, Taylor & Francis Group LLC, **2006**
- [17] Helferich, B, Klein, W, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, 450, 219 – 229, **1926**.
- [18] Dwek, R A, *Chem. Rev.*, 96, 683 – 720, **1996**.
- [19] Varki, A, *Glycobiology*, 3, 97 – 130, **1993**.
- [20] Michael, A., *J. Am. Chem.*, 1, 305, **1879**.
- [21] Fischer, E, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 26, 2400 – 2412, **1893**.
- [22] Fischer, E, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 28, 1145 – 1167, **1895**.
- [23] Koenigs, W, Knorr, E, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, 34, 957 – 981, **1901**.
- [24] Seeberger, P H, Haase, W-C, *Chem. Rev.*, 100, 4349 – 4393, **2000**.
- [25] Hanessian, S, Lou, B, *Chem. Rev.*, 100, 4443 – 4463, **2000**.
- [26] Boons, G-J, Demchenko, A V, *Chem. Rev.*, 100, 4539 – 4565, **2000**.
- [27] Demchenko, A V, *Current Org. Chem.*, 7, 35 – 79, **2003**.
- [28] Seeberger, P H, *Solid-phase oligosaccharide synthesis, în Carbohydrate-Based Drug Discovery*, Wong, C H, Ed., Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, pp. 103 – 127, **2003**.
- [29] Ferrier, R J, Hay, R W, Vethaviasar, N, *Carbohydr. Res.*, 27, 55 – 61, **1973**.
- [30] Tsai, T Y R, Jin, H, Wiesner, K, *Can. J. Chem.*, 62, 1403 – 1405, **1984**.
- [31] van Cleve, J W, *Carbohydr. Res.*, 70, 161 – 164, **1979**.
- [32] Garegg, P J, Henrichson, C, Norberg, T, *Carbohydr. Res.*, 116, 162 – 165, **1983**.
- [33] Woodward, R B, Logusch, E, Nambiar, K P, Sakan, K, Ward, D E, Au-Yeung, B-W, Balaram, Wong, H N C, *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 3215 – 3217, **1981**.
- [34] Lear, M J, Yoshimura, F, Hiram, M, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40, 946 – 949, **2001**.
- [35] Lonn, H, *Carbohydr. Res.*, 139, 105 – 113, **1985**.
- [36] Lonn, H, *Carbohydr. Res.*, 139, 115 – 121, **1985**.
- [37] Lonn, H, *J. Carbohydr. Chem.*, 6, 301 – 306, **1987**.
- [38] Andersson, F, Fugedi, P, Garegg, P J, Nashed, M, *Tetrahedron Lett.*, 27, 3919 – 3922, **1986**.
- [39] Fugedi, P, Garegg, P J, *Carbohydr. Res.*, 149, C9 – C12, **1986**.
- [40] Andersson, F, Birberg, W, Fugedi, P, Garegg, P J, Nashed, M, Pilotti, A, *ACS. Symp. Ser.*, 386, 117 – 130, **1989**.
- [41] Fugedi, P, Dimethyl (methylthio) sulfonium trifluoromethane sulfonate, în e-EROS, *Electronic Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, Paquette, L A, Ed., Wiley Interscience, New York, **2002**.
- [42] Dasgupta, F, Garegg, P J, *Carbohydr. Res.*, 177, C13 – C17, **1988**.

- [43] Dasgupta, F, Garegg, P J, *Carbohydr. Res.*, 202, 225 – 238, **1990**.
- [44] Crich, D, Sun, S, *Tetrahedron*, 54, 8321 – 8348, **1998**.
- [45] Crich, D, Sun, S, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 435 – 436, **1998**.
- [46] Crich, D, Smith, M, *Org. Lett.*, 2, 4067 – 4069, **2000**.
- [47] Crich, D, Smith, M, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 9015 – 9020, **2001**.
- [48] Codee, J D C, Litjens, R E J N, den Heeten, R, Overkleeft, H S, van Boom, J H, van der Marel, G A, *Org. Lett.*, 5, 1519 – 1522, **2003**.
- [49] Hanessian, S, Bacquet, C, Lehong, N, *Carbohydr. Res.*, 80, C17 – C22, **1980**.
- [50] Nicolaou, K C, Seitz, S P, Papahatjis, D P, *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 2430 – 2434, **1983**.
- [51] Sasaki, M, Tachibana, K, Nakanishi, H, *Tetrahedron Lett.*, 32, 6873 – 6876, **1991**.
- [52] Fukase, K, Hasuoka, A, Kinoshita, I, Aoki, Y, Kusumoto, S, *Tetrahedron*, 51, 4923 – 4932, **1995**.
- [53] Egusa, K, Fukase, K, Nakai, Y, Kusumoto, S, *Synlett*, 27 – 32, **2000**.
- [54] Veeneman, G H, van Boom, J H, *Tetrahedron Lett.*, 31, 275 – 278, **1990**.
- [55] Smid, P, de Ruiter, G A, van der Marel, G A, Rombouts, F M, van Boom, J H, *J. Carbohydr. Chem.*, 10, 833 – 849, **1991**.
- [56] Veeneman, G H, van Leeuwen, S H, van Boom, J H, *Tetrahedron Lett.*, 31, 1331 – 1334, **1990**.
- [57] Konradsson, P, Mootoo, D R, McDevitt, R E, Fraser-Reid, B, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 270 – 272, **1990**.
- [58] Konradsson, P, Udodong, U E, Fraser-Reid, B, *Tetrahedron Lett.*, 31, 4313 – 4316, **1990**.
- [59] Chung, S-K, Park, K-H, *Tetrahedron Lett.*, 42, 4005 – 4007, **2001**.
- [60] Imai, H, Oishi, T, Kikuchi, T, Hirama, M, *Tetrahedron*, 56, 8451 – 8459, **2000**.
- [61] Takeuchi, K, Tamura, T, Mukaiyama, T, *Tetrahedron Lett.*, 124 – 125, **2000**.
- [62] Aloui, M, Fairbanks, A J, *Synlett*, 797 – 799, **2001**.
- [63] Lonn, H, *Glycoconjugate J.*, 4, 117 – 118, **1987**.
- [64] Kallin, E, Lonn, H, Norberg, T, *Glycoconjugate J.*, 5, 3 – 8, **1988**.
- [65] Burkart, M D, Zhang, Z, Hung, S-C, Wong, C-H, *J. Am. Chem. Soc.*, 119, 11743 – 11746, **1997**.
- [66] Weygand, F, Ziemann, H, Bestmann, H J, *Liebigs Ann. Chem.*, 91, 2534 – 2537, **1958**.
- [67] Weygand, F, Ziemann, H, *Liebigs Ann. Chem.*, 657, 179 – 198, **1962**.
- [68] Sato, S, Mori, M, Ito, Y, Ogawa, T, *Carbohydr. Res.*, 155, C6 – C10, **1986**.
- [69] Kihlberg, J O, Leigh, D A, Bundle, D R, *J. Org. Chem.*, 55, 2860 – 2863, **1990**.

- [70] Pozsgay, V, Jennings, H J, *J. Org. Chem.*, 52, 4635 – 4637, **1987**.
- [71] Pozsgay, V, Jennings, H J, *J. Org. Chem.*, 53, 4042 – 4052, **1988**.
- [72] Marra, A, Mallet, J-M, Amatore, C, Sinay, P, *Synlett*, 572 – 574, **1990**.
- [73] Zhang, Y-M, Mallet, J-M, Sinay, P, *Carbohydr. Res.*, 236, 73 – 88, **1992**.
- [74] Uchiro, H, Mukaiyama, T, *Chem. Lett.*, 121 – 122, **1997**.
- [75] Mallet, J-M, Meyer, G, Yvelin, F, Jutand, A, Amatore, C, Sinay, P, *Carbohydr. Res.*, 244, 237 – 246, **1993**.
- [76] Gama, Y, Yasumoto, M, *Chem. Lett.*, 319 – 322, **1993**.
- [77] Mukaiyama, T, Nakatsuka, T, Shoda, S, *Chem. Lett.*, 487 – 490, **1979**.
- [78] Reddy, G V, Kulkarni, V R, Mereyala, H B, *Tetrahedron Lett.*, 30, 4283 – 4286, **1989**.
- [79] Chen, Q, Kong, F, *Carbohydr. Res.*, 272, 149 – 158, **1995**.
- [80] Tsuboyama, K, Takeda, K, Torii, K, Ebihara, M, Shimizu, J, Suzuki, A, Sato, N, Furuhashi, K, Ogura, H, *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 636 – 638, **1990**.
- [81] Takeda, K, Tsuboyama, K, Torii, K, Furuhashi, K, Sato, N, Ogura, H, *Carbohydr. Res.*, 203, 57 – 63, **1990**.
- [82] Demchenko, A V, Kamat, M N, De Meo, C, *Synlett*, 1287 – 1290, **2003**.
- [83] Demchenko, A V, Malysheva, N N, De Meo, C, *Org. Lett.*, 5, 455 – 458, **2003**.
- [84] Fugedi, P, Garegg, P J, Lonn, H, Norberg, T, *Glycoconjugate J*, 4, 97 – 108, **1987**.
- [85] Garegg, P J, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 52, 179 – 205, **1997**.
- [86] Kahne, D, Walker, S, Cheng, Y, van Engen, D, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 6881 – 6882, **1989**.
- [87] Crich, D., Dai, Z, *Tetrahedron*, 55, 1569-1580, **1999**
- [88] Yan, L., Kahne, D., *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 9239-9248, **1996**
- [89] Zhang, H., Wang, Y., Thurmer, R., Al-Qawasmeh, R. A., Voelter, W., *Polym. J. Chem.*, 73, 101-115, **1999**
- [90] Chanteloup, L., Beau, J.-M., *Tetrahedron Lett.*, 33, 5347-5350, **1992**
- [91] Yoshimura, Y., Kitano, K., Satoh, H., Watanabe, M., Muira, S., Sakata, S., Sasaki, T., Matsuda, A., *J. Org. Chem.*, 61, 822-823, **1996**
- [92] Gildersleeve, J., Smith, A., Sakurai, K. Raghavan, S., Kahne, D., *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 6176-6182, **1999**
- [93] Ikemoto, N., Schreiber, S. L., *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 2524-2535, **1992**
- [94] Raghavan, S, Kahne, D, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 1580 – 1581, **1993**.
- [95] Alonso, I, Khair, N, Martin-Lomas, M, *Tetrahedron Lett.*, 37, 1477 – 1480, **1996**.

- [96] Sliedregt, L A J M, van der Marel, G A, van Boom, J H, *Tetrahedron Lett.*, 35, 4015 – 4018, **1994**.
- [97] Nagai, H, Matsumura, S, Toshima, K, *Tetrahedron Lett.*, 41, 10233 – 10237, **2000**.
- [98] Wipf, P, Reeves, J T, *J. Org. Chem.*, 66, 7910 – 7914, **2001**.
- [99] Kartha, K P R, Karkkainen, T S, Marsh, S J, Field, R A, *Synlett*, 260 – 262, **2001**.
- [100] Marsh, S J, Kartha, K P R, Field, R A, *Synlett*, 1376 – 1378, **2003**.
- [101] Brown, D S, Ley, S V, Vile, S, *Tetrahedron Lett.*, 29, 4873 – 4876, **1988**.
- [102] Brown, D S, Ley, S V, Vile, S, Thompson, M, *Tetrahedron*, 47, 1329 – 1342, **1991**.
- [103a] Chang, G X, Lowary, T L, *Org. Lett.*, 2, 1505 – 1508, **2000**.
- [103b]. E. Şişu, Alina Zamfir, Ioana Şişu, C. Neanu, C. Csunderlik, V. Rusu, Jasna Peter Katalinic - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53, (11), **2002**, 779-781.
- [103c]. E. Şişu, Alina Zamfir, Ioana Şişu, C. Neanu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Rusu, Jasna Peter Katalinic - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53 (12), **2002**, 848-850.
- [104] Judoviris, A., Staniulyte, Z., Palaima, A., *Chemija* 2, 80-85, **1997**
- [105] Thompson, C., Ge, M., Kahne, D., *J. Am. Chem. Soc.*, 121, 1237-1244, **1999**
- [106] Stork, G., Kim, G., *J. Am. Chem. Soc.*, 114, 1087-1088, **1992**
- [107] Stork, G., La Clair, J. J., *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 246-248, **1996**
- [108] Crich, D., Sun, S., *J. Org. Chem.*, 62, 1198-1199, **1997**
- [109] H. Paulsen, *Angew. Chem. Int. Ed.* 21, 155, **1982**
- [110] Mootoo, D R, Konradsson, P, Udodong, U, Fraser-Reid, B, *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 5583 – 5584, **1988**.
- [111] Friesen, R W, Danishefsky, S J, *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 6656 – 6660, **1989**.
- [112] Barrena, M I, Echarri, R, Castillon, S, *Synlett*, 675 – 676, **1996**.
- [113] Cheung, M K, Douglas, N L, Hinzen, B, Ley, S V, Pannecoucke, X, *Synlett*, 257 – 260, **1997**.
- [114] Nguyen, H M, Poole, J L, Gin, D Y, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40, 414 – 417, **2001**.
- [115] Hashimoto, S, Sakamoto, H, Honda, T, Ikegami, S, *Tetrahedron Lett.*, 38, 5181 – 5184, **1997**.
- [116] Hashimoto, S, Sakamoto, H, Honda, T, Abe, H, Nakamura, S, Ikegami, S, *Tetrahedron Lett.*, 38, 8969 – 8972, **1997**.
- [117] Chiba, H, Funasaka, S, Mukaiyama, T, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 76, 1629 – 1644, **2003**.
- [118] Fraser-Reid, B, Wu, Z, Andrews, C W, Skowronski, E, Bowen, J P, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 1434 – 1435, **1991**.

- [119] Grice, P, Ley, S V, Pietruszka, J, Osborn, H M I, Priepke, H W M, Warriner, S L, *Chem. Eur. J.*, 3, 431 – 440, **1997**.
- [120] Boons, G J, Geurtsen, R, Holmes, D, *Tetrahedron Lett.*, 36, 6325 – 6328, **1995**.
- [121] Geurtsen, R, Holmes, D S, Boons, G J, *J. Org. Chem.*, 62, 8145 – 8154, **1997**.
- [122] Zhang, Z, Ollmann, I R, Ye, X-S, Wischnat, R, Baasov, T, Wong, C-H, *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 121, no.4, 734 – 753, **1999**.
- [123] Ye, X-S, Wong, C-H, *J. Org. Chem.*, 65, 2410 – 2431, **2000**.
- [124] Namchuk et al, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 1270-1277.
- [125] H. H. Jensen, L. Lyngbye, A. Jensen, M. Bols, *Chem. Eur. J.* **2002**, 8, 1218-1226.
- [126] H. H. Jensen, L. Lyngbye, M. Bols *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3447-3449.
- [127] M. Bols, H. H. Jensen *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 8970-74
- [128] C. McDonnell, O. Lopez, M. Bols, *J. Am. Chem. Soc.* 126, 39, **2004**, 12374-12385.
- [129] C. Walford, R. F. W. Jackson, N. H. Rees, W. Clegg, S. L. Heath, *Chem. Commun.* **1997**, 19, 1855-1856.
- [130] K. P. Ravindranathan Kartha, R. A. Field, *Tetrahedron*, vol.53, no.34, 11753-11766, **1997**
- [131] Johan Broddefalk, Karl-Erik Bergquist and Jan Kihlberg, *Tetrahedron*, Volume 54, Issue 39, 24 September **1998**, Pages 12047-12070
- [132] David Askin, Christof Angst, Samuel Danishefsky; *J. Org. Chem.* **1987**, **52**, 622-635
- [133] Anne Bullow, *Eurjoc.*, **2003**, pg. 5
- [134] Oscarson S., Sehgelmeble W., *J.Org.Chem.* **2002**, 67, 8457-8462
- [135] Wong, Chi-Huey; Ye, Xin-Shan; Zhang, Zhiyuan; *J. Am. Chem. Soc.* 120, 28, **1998**, 7137-7138
- [136] Lonn, H., *Chem Commun*, Stockholm Univ, **1984**, no2, 1-30
- [137] Reichardt, C., *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 3rd ed., **2003**, pg. 126-132
- [138] D. Crich, S. Sun, *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 4506-4507
- [139] E. Şişu, Anca Lascu, V. Bercean, M. Căproiu, Alina Zamfir, Ioana Şişu, C. Neanu, C. Csunderlik, V. Rusu, Jasna Peter Katalinic - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 54, (2), **2003**, 181-183.
- [140] a) E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, V. Rusu - *Analele Universităţii "Aurel Vlaicu", Arad, ser. chim. fasc. Chimie si protecţia mediului*, **2000**, 325-329 b) E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, V. Rusu -- *Analele Universităţii "Aurel Vlaicu", Arad, ser. chim. fasc. Chimie si protecţia mediului*,

- 2000**, 329-333 **c)** E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timişoara*, ser. chem., 10 (2) **2001**, 399-404 **d)** E. Şişu, Anca Lascu, Ioana Şişu, C. Neanu, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timişoara*, ser. chem., 10 (2) **2001**, 405-410; **e)** E. Şişu, C. Neanu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timişoara*, ser. chem., 10 (2) **2001**, 411-416; **f)** E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, C. Csunderlik, Loredana Humă, V. Rusu - *Annals of West University of Timişoara*, ser. chem., 10 (2) **2001**, 417-422
- [141] **a)** E. Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, Alina Zamfir, Ioana Şişu, V. Rusu - *Fifth Summer School on Green Chemistry, Venice – ITALY, September 8-14*, **2002**, pg. 26; **b)** Ioana Şişu, V. Bercean, Anca Lascu, M. Căproiu, C. Neanu, C. Csunderlik, V. Rusu, E. Şişu - *Sixth Post-Graduate Summer School on Green Chemistry, Venezia – ITALY, August 31th - September 6*, **2003**; **c)** C. Neanu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Bercean, E. Şişu - *Ischia Advanced School of Organic Chemistry – IASOC, Ischia Porto (Napoli) – ITALY, September 18-23*, **2004**
- [142] **a)** Anca Lascu, E. Şişu, C. Neanu, Ioana Şişu, V. Rusu, C. Csunderlik - *Annals of West University of Timişoara*, ser.chem., 12 (3) **2003**, 1213-1216; **b)** E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, V. Rusu, C. Csunderlik - *Annals of West University of Timişoara*, ser.chem., 12 (1) **2003**, 1229-1232; **c)** Ioana Şişu, V. Bercean, Anca Lascu, C. Neanu, C. Csunderlik, V. Rusu, E. Şişu - *Annals of West University of Timişoara*, ser.chem., 12 (1) **2003**, 1233-1238

CAPITOLUL 3:

SINTEZE DE AMINOALDITOL ACETALI CA INTERMEDIARI ÎN OBȚINEREA PSEUDOCERAMIDELOR

3.1. Stadiul Cunoașterii - Strategii cu grupe protectoare

3.1.1. Considerații Privind Grupele Protectoare și Rolul lor în Chimia Hidraților de Carbon

Grupele protectoare și strategiile de protejare sunt componente importante ale tuturor sintezelor de molecule organice complexe. Acest lucru este în mod special valabil în chimia zaharurilor și în sinteza de oligozaharide datorită numărului mare de grupe funcționale prezente. Cele mai multe dintre aceste grupe funcționale sunt de același tip (grupe OH) și necesită strategii regioselective de protejare. Deși până acum au fost editate numeroase cărți ce abordează subiectul grupelor protectoare în chimia organică [1-4], numărul lor este în continuă creștere, noi grupe și noi metodologii fiind în continuu dezvoltate [5, 6], o mare parte din această literatură ocupându-se de manipularea grupelor protectoare cu aplicabilitate în chimia hidraților de carbon.

Grupele protectoare sunt folosite în chimia carbohidraților la fel ca în orice altă parte a chimiei organice, condițiile de introducere și îndepărtare a lor precum și stabilitatea și ortogonalitatea lor fiind aceleași [1-4]. (Spunem despre 2 grupe protectoare că sunt ortogonale atunci când una dintre ele este capabilă de a fi îndepărtată în prezența celeilalte). Ceea ce este diferit în chimia carbohidraților este faptul că datorită cerințelor de regio- și stereoselectivitate a reacțiilor, numărul de grupe protectoare necesare este cu mult mai mare. De departe cele mai importante grupe protectoare în chimia carbohidraților sunt acelea folosite pentru protejarea grupelor -OH, incluzând aici și semiacetalul anomic. Grupele pentru protejarea amino (la amino-deoxi zaharuri) și cele pentru protejarea grupelor carboxil (la acizii uronici și ulosonici) sunt și ele însă de un mare interes.

3.1.2. Grupe Protectoare pentru -OH

Numărul mare de grupe -OH prezente în hidrații de carbon precum și necesitatea de a le proteja regioselectiv, fac absolut necesară existența unor

strategii în ceea ce privește grupele protectoare. În sinteza de oligozaharide, grupele protectoare temporare și permanente au un rol foarte important, grupele permanente rămânând de-a lungul tuturor etapelor de sinteză până la obținerea produsului final. Cele două tipuri de grupe protectoare necesită proprietăți și calități diferite. Grupele permanente ar trebui să poată fi introduse și îndepărtate regioselectiv și cu eficiență ridicată. Evident, ele trebuie să fie stabile la condițiile de glicozilare precum și la cele folosite pentru îndepărtarea sau introducerea grupelor temporare. Grupele protectoare temporare ar trebui să fie stabile în timpul tuturor reacțiilor, de la introducerea lor până la îndepărtarea lor, reacții care să poată fi realizate în condiții care să nu afecteze alte grupe funcționale prezente în moleculă. În structurile ramificate sau în cele cu substituenți (fosfați, sulfați, acetati, etc.) este necesară folosirea a diferite grupe protectoare temporare care să fie ortogonale unele cu altele (adică una să fie capabilă să fie îndepărtată în prezența celeilalte). Este de preferat să fie utilizat doar un tip de grupe protectoare pentru a permite o singură etapă finală de deprotejare, obiectiv însă de multe ori greu de realizat [15a].

3.1.2.1. Grupe Protectoare Permanente

Foarte puține grupe protectoare din numărul mare existent îndeplinesc criteriul de a fi grupe protectoare permanente. Doar acetatii, benzoatii, benzil eterii și unii acetali au și stabilitate și în același timp și proprietățile necesare pentru introducerea sau deprotejarea lor eficientă, aspecte care fac din ele grupe protectoare potrivite acestui scop. În acest fel aceste grupe protectoare stau la baza tuturor strategiilor cu grupe protectoare în sinteza de oligozaharide. Protejări complete eficiente ale oligo- și polizaharidelor sunt frecvent realizate folosind trimetilsilil eterii (TMS). Cu toate acestea, nici una din aceste grupe nu poate fi folosită în sintezele chimice cu scheme complexe de protejare-deprotejare tocmai datorită stabilității lor prea mari (metil eterii) sau prea mici (TMS eterii) [15b].

A. Esteri (Acetați și Benzoați)

Deoarece atât acetatii cât și benzoatii sunt grupe acil, introducerea sau îndepărtarea lor are loc în condiții similare. Condițiile standard pentru esterificare, sunt cu clorură de acil (în special pentru benzoați) sau cu anhidridă (în special pentru acetati) în piridina (**Figura 3-1**). Adăugarea altor baze sau a unui cosolvent sunt de asemenea variante uzuale. Acetilarea poate fi de asemenea realizată în condiții acide cu o viteză și o eficiență ridicate. Stabilitatea acestor esteri în mediu acid este ridicată, însă în mediu bazic au doar o stabilitate moderată, acetatii fiind cei mai labili. Mai mult de atât, esterii (în special acetatii) au tendința de a migra atât în condiții acide cât și bazice (mai rapid) [7]. Condițiile standard pentru îndepărtarea grupelor protectoare esterice includ o cantitate catalitică de metoxid de sodiu (MeONa) în metanol (condițiile Zemplén), uneori utilizându-se și un cosolvent. De asemenea în unele cazuri mai poate fi utilă și deprotejarea cu amoniac în MeOH. Acetatii și benzoatii sunt grupe protectoare excelente. Ei pot fi introduși și îndepărtați cu randamente ridicate și în condiții de reacție blânde. Neajunsul lor ca și

grupe protectoare permanente este stabilitatea relativ limitată în mediul bazic precum și tendința lor de a migra.

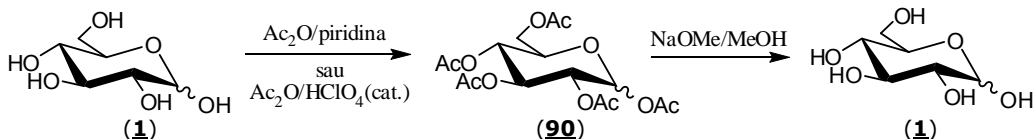


Figura 3-1. Acetilarea și deacetilarea D-glucosei

B. Eteri (Grupe Benzil)

Benzilările sunt de obicei realizate în condiții puternic bazice. Condițiile standard sunt cu BnBr și hidruură de sodiu (NaH) într-un solvent polar aprotic (**Figura 3-2**). Alternativele mai puțin bazice ce permit prezența grupelor esterice, sunt Ag_2O ca și bază, sau benziltricloroacetimidatul și benziltriflatul ca și reactanți. Acești ultimi reactanți pot fi activați în condiții neutre sau acide. Însă cu toate că sunt alternative utile, aceste metode sunt de obicei mai puțin eficiente. Ele pot fi folosite pentru introducerea a doar una sau cel mult câtorva grupe benzil. Benzil eterii sunt foarte stabili, în general putând fi îndepărtați doar în condiții puternic acide (în special acetoliză). Benzil eterii sunt în mod obișnuit deprotejați prin hidrogenoliză catalitică ce implică diverși catalizatori pe baza de Pd. Probleme ar putea apărea în special dacă molecula conține funcții ce pot „otrăvi” catalizatorul, cum ar fi spre exemplu grupele tio sau amino. O alternativă la această metodă este reducerea de tip Byrch (Na/amoniac lichid). În aceste condiții benzil eterii sunt îndepărtați rapid [8]. Astfel se poate spune că benzil eterii sunt grupe protectoare excelente. Ei sunt stabili în aproape toate condițiile și sunt ușor de îndepărtat în condiții de reacție neutre. Singurul lor neajuns este că introducerea lor necesită condiții destul de dure.

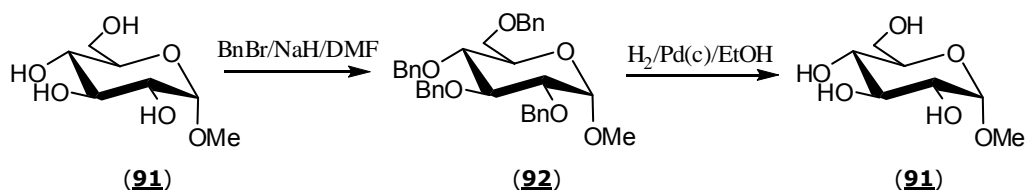


Figura 3-2. Benzilarea și debenzilarea metil α -D-glucopiranozidei

C. Acetali Ciclici

Ca și posibili acetali, benzilidenii și izopropilidenii au fost utilizați cel mai frecvent în chimia hidraților de carbon pentru a proteja simultan 2 grupe $-\text{OH}$. Ei sunt introduși prin condițiile de acetalizare standard, atât aldehida cât și dimetoxi

acetalul fiind utilizați ca și reactant împreună cu un catalizator acid. (**Figura 3-3**) [9]. Obținerea acetalilor izopropilidenici sub control cinetic se poate realiza folosind metoxi propenil eterul. Benziliden acetali se obțin în condiții bazice folosind α,α -dibromtoluen în piridină la reflux [10].

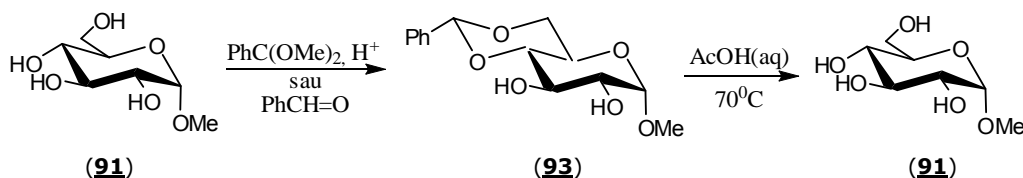


Figura 3-3. Benzilidenarea și debenzilidenarea metil- α -D-glucopiranozidei

Scindarea acetalilor se obține prin hidroliză acidă, condițiile standard fiind în acid acetic (70% aq) la temperatură ridicată sau cu acid trifluoro acetic (TFA, 90% aq) la 0 °C. Avantajul acetalilor ca și grupe protectoare este ușurința introducerii lor regioselective în combinație cu un număr apreciabil de posibile transformări ulterioare (a acetalilor benzilidenici) și posibilitatea obținerii a diferite scheme de protejare la grupările -OH.

3.1.2.2 Grupe Protectoare Temporare

În comparație cu numărul mic de grupe protectoare ce pot fi considerate ca fiind grupe protectoare permanente, există o abundență de grupe protectoare temporare posibile, în continuare fiind descoperite și dezvoltate altele noi. Cu toate acestea, multe dintre ele sunt necorespunzătoare, având aceleași caracteristici sau profile de stabilitate, sau sunt dificil de folosit (necomerciale). Astfel că de fapt numărul real de grupe protectoare temporare eficiente nu este chiar așa de mare [15c].

A. Esteri

Acetații pot fi folosiți ca și grupe protectoare temporare în prezența benzoaților. Acetații sunt mai instabili decât benzoații însă ambele grupe pot fi îndepărtate selectiv atât în condiții acide (HCl/MeOH) [11] cât și bazice (Mg(OMe)2/MeOH) [12]. În mod evident benzoații pot fi de asemenea utilizați ca și grupe protectoare temporare (de ex. în prezența benzilului ca și grupă protectoare permanentă), însă adesea există o cerință de îndepărtare a unor grupe esterice în prezența atât a acetaților cât și a benzoaților. Exemple de astfel de esteri ce în mod uzual sunt utilizați în sintezele de oligozaharide sunt cloroacetatul și levulinatul (4-oxopentanoat) (**Figura 3-4**). Pentru aceștia din urmă, datorită instabilității lor în mediu bazic, trebuie luate precauții atunci când sunt introduși. Adesea piridina se folosește ca și cosolvent. Cloroacetații sunt în mod tradițional îndepărtați prin tratare cu tiouree sau cu acetat de hidrazină. Datorită efectului cancerigen al acestor

reactivi, variantele alternative au devenit destul de atractive, una din ele fiind folosirea de baze slabe cum ar fi piridina sau DABCO [13]. Esterii levulinoil sunt de obicei îndepărtați în condiții blânde prin tratare cu hidrazină. În ciuda faptului că esterii pivaloți nu sunt formal grupe protectoare temporare, ei sunt utilizați frecvent în sinteza de oligozaharide, avantajul lor fiind că pot fi introduși foarte ușor, selectiv, în pozițiile primare, datorită volumului mare și împiedicării sterice. Mai mult de atât, ca și grupe participante 2-O în donori, ei previn formarea de ortoesteri ca produși secundari de reacție [14].

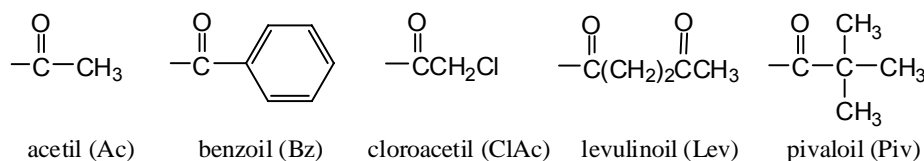
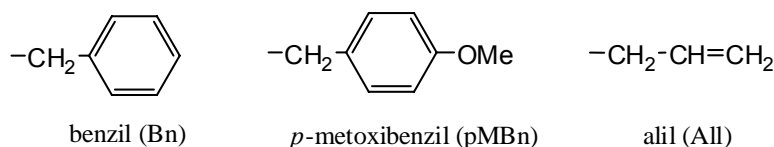


Figura 3-4. Grupele protectoare esterice uzuale

B. Eteri

Cele mai folosite grupe protectoare în afara benzil eterilor sunt p-metoxibenzil, alil, tritil și silil eterii (**Figura 3-5**). Aceștia toți pot fi îndepărtați în prezența grupelor protectoare permanente standard. La introducerea lor există o distincție clară între p-metoxibenzil și alil eteri (de obicei formați în condiții puternic bazice) și între tritil și silil eteri (de obicei formați în condiții slab bazice – de regulă cu clorură de tritil sau silil în piridină). Astfel, nu există nici o problemă asociată cu tritilarea sau sililarea derivaților ce conțin esterii, pe când în cazul alilării sau p-metoxibenzilării unor astfel de derivați sunt adesea necesare condiții speciale.

Există numeroase tipuri de silil eteri, însă cel mai frecvent utilizați, în principal datorită stabilității lor la sintezele de oligozaharide, sunt grupele *tert*-butildimetil-silil (TBDMS) sau difenilsilil. O problemă ce apare la silil eteri este aceea că, la fel ca esterii, ei pot migra către grupele -OH învecinate libere, în condiții bazice [16]. Silil eterii pot fi îndepărtați prin tratare cu ionul fluorură. În funcție de reactivul cu fluor utilizat, se pot folosi atât condiții bazice, neutre sau acide. Îndepărtarea tritil eterilor se realizează prin hidroliză acidă. Folosirea analogilor mono- ori di-metoxi crește labilitatea tritil eterilor, însă nici unul din tritil eteri nu este suficient de stabil pentru a rezista condițiilor normale de glicozilare, astfel că ei sunt folosiți doar ca intermediari în construirea de sintoni pentru sinteza de oligozaharide.



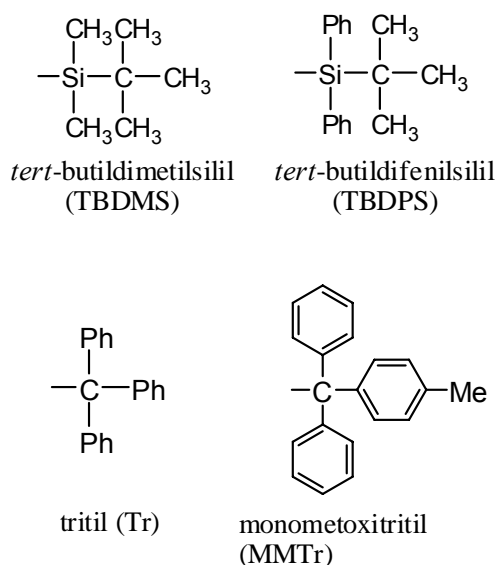


Figura 3-5. Grupele protectoare eterice uzuale

C. Acetali

Dintre grupele protectoare acetalice utilizate în cazul grupărilor hidroxicale vicinale, o alternativă la benziliden acetali este *p*-metoxibenziliden acetalul (**Figura 3-6**). Acesta este mai labil în mediu acid și poate fi îndepărtat în prezența acetalilor benzilidenici de bază. O altă opțiune sunt acetali acroleinici și nou introdușii 2-naftil și 9-antracilmetilen acetali [17, 18]. Toți acești acetali arată aceeași regioselectivitate (pentru dioli *cis* vicinali) ca acetali benzilidenici. Prin contrast, noile grupe dispirocetal (*dispoke*), ciclohexan 1,2-diacetal (CDA) și butan-1,2-diacetal dezvoltate, arată o regioselectivitate complet diferită și furnizează o protecție simultană a diolilor vicinali *trans* [19], făcând din ele cea mai importantă contribuție adusă strategiilor cu grupe protectoare. Ciclohexiliden acetali sunt folosiți ocazional, cel mai adesea ca alternativă la benziliden acetali, însă au un impact conformațional diferit destul de mic asupra derivaților de zaharuri în comparație cu cei benzilidenici. [20, 21]

În cele din urmă, silil acetali (**Figura 3-6**) sunt folosiți ca alternative viabile la acetali discutați anterior. Reprezentativ pentru acest grup este 1,3-(1,1,3,3-tetraizopropil-disiloxaniliden acetalul (TIPDS)).

Acetali mono-OH protejați, în principal grupele metoximetil (MOM), benziloximetil (BOM) și tetrahidropiranil (THP), sunt utilizați doar sporadic în chimia oligozaharidelor, iar folosirea lor probabil că va scădea și mai mult în viitor datorită efectului cancerigen al reactivilor (MOM-Cl și BOM-Cl) sau al formării de amestecuri diastereomere (THP-acetali).

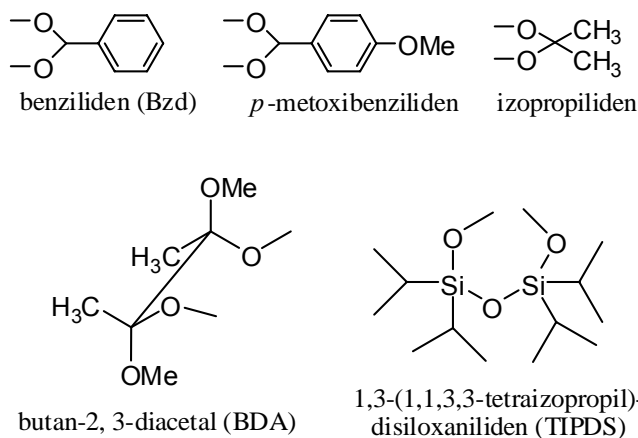


Figura 3-6. Grupe protectoare de tip acetalic

3.2. Contribuții Originale. [Aminoalditol acetali ca intermediari în obținerea pseudoceramidelor]

3.2.1. Introducere:

Dezvoltarea de noi compuși superficial activi, biocompatibili și biodegradabili pe bază de materii prime naturale reprezintă un subiect de mare actualitate [22]. Derivații de aminoalditoli constituie în acest sens o categorie de substanțe care pot fi utilizate atât ca surfactanți cât și ca înlocuitori ai ceramidelor [23, 24]. Utilizarea aminoalditoli, în particular a N-metil-glucaminei (compus ușor accesibil și la un preț scăzut) ca aminoalcool, permite adoptarea a cel puțin două strategii, în scopul obținerii unui compus cu caracter amfipatic care să 'mimeze' o ceramidă naturală:

- atașarea unei cozi nepolare la funcțiunea aminică urmată de atașarea unei cozi nepolare la una din funcțiunile alcoolice
- realizarea unei legături amidice la nivelul funcțiunii aminice (prin acetilare) urmată de atașarea a două cozi nepolare la nivelul funcțiunilor alcoolice.

Realizarea acestor reacții, prin care la structura de bază alditolică se atașează grupări acil cu catenă lungă, se poate face prin metode biocatalitice, utilizând capacitatea catalitică și specificitatea lipazelor [25, 26]. O nouă abordare în ce privește sinteza acestor compuși pleacă de la N-acetil-N-metil-glucozamină și permite atașarea enzimatică a resturilor de acizi grași prin reacții de esterificare sau transesterificare catalizate de lipaze [27].

Monitorizarea elegantă a reacției enzimatică se poate face prin HPLC sau GC, caz în care sunt necesari mono- și diesterii N-acetil-N-metil-glucaminei utilizați ca martori. Esterificarea selectivă a fiecărei poziții din derivatul aminoalcoolic amintit, presupune blocarea selectivă a tuturor funcțiunilor alcoolice mai puțin una care va fi esterificată. Deprotejarea funcțiunilor alcoolice, în condițiile în care gruparea esterică rămâne neafectată, va furniza esterul dorit.

3.2.2. Obiective:

Această parte a tezei este consacrată:

- 1. sintezei și purificării mono- și diesterilor N-acetil-N-metil-glucozaminei, compuși ce urmează a fi utilizați ca martori în monitorizarea reacției enzimaticе de obținere a pseudoceramidelor.
- 2. studiului reacției de acetalare sub control cinetic
- 3. analizei produșilor de reacție

3.2.3. Rezultate și discuții:

Condensarea aldehydelor și cetonelor cu alcoolii și poliolii este una din primele reacții studiate din chimia organică. În 1895, Emil Fischer obține primii acetali ai fructozei și mai apoi ai glucozei în cataliză acidă [28].

Acetalii se pot obține în condiții acide, bazice, neutre sau prin alte metode [29, 48, 49, 55]. O serie de review-uri bine documentate punctează rezultatele obținute în cazul reacției de acetalare a alditolilor [30], aldozelor, aldozidelor [31, 32] și cetozelor [33] dar nu și în cazul aminoalditolilor.

Acetalii se pot obține atât sub control termodinamic cât și sub control cinetic, figurile de mai jos rezumând contribuția reactanților în obținerea preferențială fie a unui produs fie a celui alt. Exemplele sunt date pentru izopropiliden acetali (**Figura 3-7**) și pentru ciclohexiliden acetali (**Figura 3-8**) [29, 50]

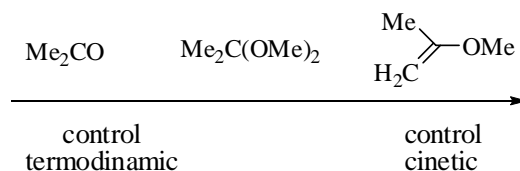


Figura 3-7. Obținerea izopropiliden acetalilor sub control cinetic și termodinamic

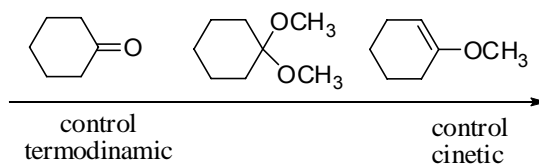
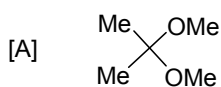


Figura 3-8. Obținerea ciclohexiliden acetalilor sub control cinetic și termodinamic

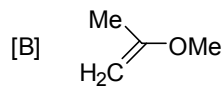
Se poate concluziona astfel că, spre exemplu în cazul izopropiliden acetalilor, un mai bun control cinetic se obține folosind succesiv acetonă, 2,2-dimetoxipropan sau 2-metoxipropenă (**Figura 3-7**)

Acetalizarea N-acetil-N-metil-glucaminei a fost realizată prin reacții de transacetalizare în mediu acid [cap 3.2.3.A] cu :

1. 2-metoxi propenă și 2, 2 dimetoxipropan pentru obținerea Izopropiliden acetalilor [43, 52]:

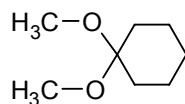


2,2 dimetoxipropan

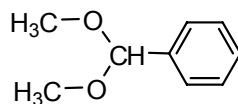


2-metoxi propena

2. dimetilacetalul ciclohexanonei pentru obținerea Ciclohexiliden acetalilor [44, 51]:



3. α,α -dimetoxi toluen pentru obținerea Benziliden acetalilor [53, 54]:



Reacțiile au fost monitorizate prin TLC, punând de fiecare dată în evidență formarea mai multor compuși. La inspecția CSS (AcOEt:MeOH=90:10) prezintă 5 spoturi (respectiv 4 la izopropilidenacetal) (**Figura 3-9**).

Având în vedere atât polaritatea plăcii cât și a solventului, se pot atribui spoturile 1, 2 și 3 izomerilor diacetalici (respectiv spoturile 1 și 2 la izopropilideni) iar spoturile 4 și 5 derivaților monoacetalici. După separarea spoturilor și derivatizarea substanțelor din fiecare spot prin acetilare, analiza prin MS confirmă atribuirile propuse. În toate cele trei variante produsul majoritar a fost acetalul 5,6-O-izopropilidenic, benzilidenic respectiv ciclohexilidenic.

În cazul analizei MS-EI a izopropiliden acetalilor nu s-a putut pune în evidență picul molecular la nici unul din derivații acetilați ai substanțelor din spoturile 1-5 (chiar la o energie de ionizare de 19-22eV) însă în toate cazurile apare picul de la $m/z=[M-CH_3]$, caracteristic derivaților izopropilidenici [34].

AcOEt:MeOH = 90:10

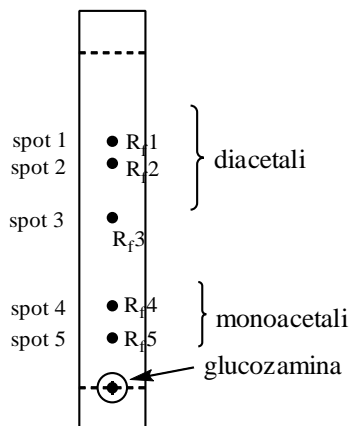


Figura 3-9.

În cazul ciclohexiliden acetalilor, spoturile 1, 2 și 3 sunt derivați dicitlohexilidenici, prezentând picul molecular $m/z=397(M^+)$ la o energie de ionizare de 22eV confirmând atribuirile propuse. În cazul spoturilor 4 și 5, acestea au fost derivatizate prin acetilare, picul molecular al derivaților triacetilați fiind surprins la o energie de ionizare de 24eV, $m/z=443(M^+)$.

De asemenea și în cazul benziliden acetalilor, după separarea prin FC compușii au fost analizați prin MS-EI, spoturile 1, 2 și 3 fiind derivații dibenzilidenici cu picul molecular la $m/z=413(M^+)$ la o energie de ionizare de 22eV, confirmându-se astfel atribuirile propuse. Spotul 1 a fost caracterizat ca derivat acetilat ce are picul molecular la $m/z=455(M^+)$, 24eV.

Analiza spectrelor 1H -RMN este dificilă pe de-o parte datorită faptului că cei 8 protoni ai catenei liniare se dispun în intervalul 3.2-4.3 ppm în toate cele 5 cazuri (atât la derivații izopropilidenici, ciclohexilidenici cât și benzilidenici), iar pe de altă parte datorită coexistenței în echilibru la temperatura la care are loc înregistrarea spectrului a conformerilor: sinperiplanar notat în continuare „cis” și antiperiplanar notat în continuare „trans” datorăți legăturii amidice (**Figura 3-10**) care determină dublarea numărului total al semnalelor.

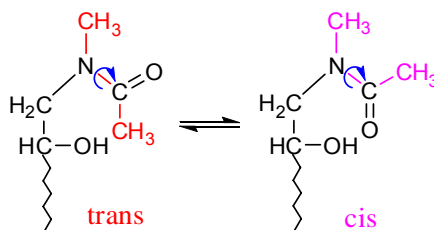


Figura 3-10. Coexistența în echilibru la temperatura la care are loc înregistrarea spectrului a conformerilor „cis” și „trans” datorăți legăturii amidice, determină dublarea numărului total al semnalelor în spectrul 1H -RMN.

Spectroscopia ^{13}C -RMN a oferit încă de la începuturile ei date prețioase privind natura ciclurilor acetalice precum și poziționarea lor [35, 36]. Rezumând un foarte mare număr de date spectrale ^{13}C -RMN privind acetali ai monozaharidelor și ai derivaților acestora Buchanan și colab. [37, 38] au observat că deplasarea chimică a carbonului acetalic este puternic influențată de mărimea ciclului și se plasează în următoarele intervale:

108.1-115.7 ppm pentru cicluri 1,3-dioxolanice

97.1-101.1 ppm pentru cicluri 1,3-dioxanice și

100.8-102.3 ppm pentru cicluri 1,3-dioxepanice

Un alt indiciu clar al naturii ciclurilor acetalice de tip izopropilidenic, ciclohexilidenic sau benzilidenic este furnizat de diferența între deplasările chimice ale atomilor de carbon din grupele metil din ciclul izopropilidenic, ale atomilor de carbon din poziția α față de carbonul acetalic din ciclul ciclohexilidenic, sau ale atomilor de carbon din ciclul benzenic, diferență ce are valori cuprinse între 9.8-10.9 ppm în cazul ciclurilor 2,2-dimetil-1,3-dioxanice și valori mai mici de 5 ppm în cazul ciclurilor 2,2-dimetil-1,3-dioxolanice [39].

Analiza prin ^{13}C -NMR în cazul diacetalilor a pus în evidență formarea atât a diacetalilor 1,3-dioxolanici (2,3:5,6; 3,4:5,6) cât și a diacetalilor micști dioxolanici și dioxanici (2,3:4,6). Mici cantități de 4,6-monoacetali au fost puse în evidență și provin din rearanjarea ciclului dioxolanic cu formarea ciclului mai stabil termodinamic 1,3-dioxanic (procesul decurgând lent la temperaturi scăzute).

A. Discuție privind Izopropiliden Acetalii

(identificarea compușilor și natura ciclurilor)

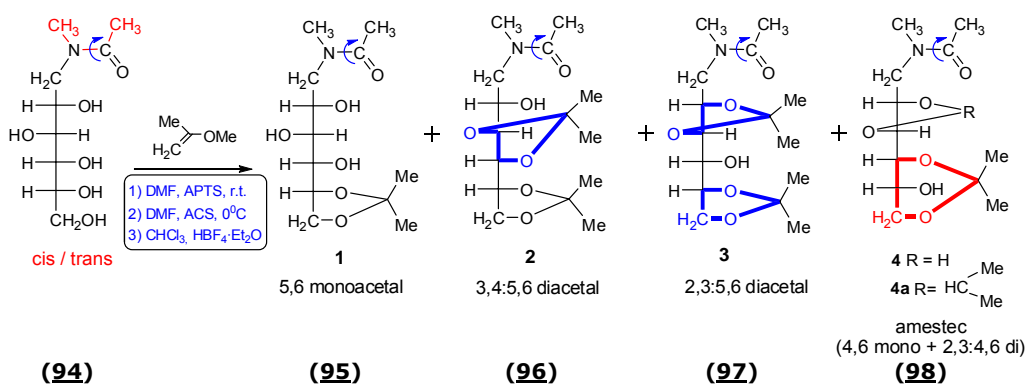


Figura 3-11. Sinteza Izopropiliden acetalilor N-acetil-N-metil-glucozaminei

AcOEt:MeOH = 90:10

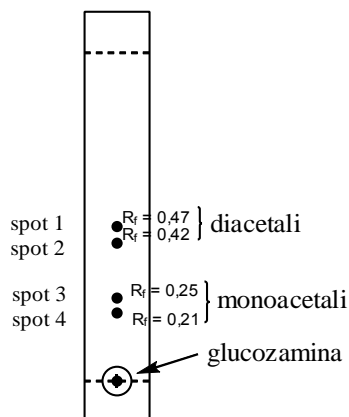


Figura 3-12. Controlul TLC al amestecului de reacție indică prezența a 4 spoturi

Analizând spectrul ^{13}C -RMN al compusului corespunzător spotului 1 (**Figura 3-12**) (**Anexa 13**) se constată prezența a 4 semnale cuprinse între 172.27 și 170.69 ceea ce indică prezența a doi izomeri (fiecare cu doi conformeri). Cele 7 semnale cuprinse între 109.82 și 109.22 corespund la 4 atomi de carbon acetalici în cicluri 1,3-dioxolanice și aparțin la doi izomeri, ambii diizopropilidenici, care au câte doi conformeri. Existența izomerilor diizopropilidenici având doar cicluri 1,3-dioxolanice este întărită și de analiza diferenței între valorile deplasărilor corespunzătoare grupelor metil care se plasează în intervalul 27.345 și 25.326 ppm. Se constată că diferența între oricare două valori cuprinse în acest interval este mai mică decât 5 și prin urmare compuşii posedă doar cicluri dioxolanice. Cei doi izomeri ce compun spotul 1 nu pot fi decât compuşii **2** și **3** din **Figura 3-11**, adică: 2,3:5,6-di-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina respectiv 3,4 :5,6-di-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina. Poziționarea uneia din grupările izopropilidenice pe poziția 5, 6 va fi justificată în continuare.

Analiza spectrului ^{13}C -RMN a compusului corespunzător spotului 2 (**Figura 3-12**) pune în evidență 4 semnale: 109.32 și 109.117 ppm ce corespund unui atom de carbon acetalic dintr-un ciclu 1,3-dioxolanic și la 99.673, 99.171 ppm ce corespund unui atom de carbon acetalic dintr-un ciclu 1,3-dioxanic. Dacă se admite că 5,6-izopropiliden derivatul format inițial, se stabilizează în timp la izomerul 4,6-izopropilidenic mai stabil termodinamic, atunci spotul 2 nu poate corespunde decât compusului **4a** din **Figura 3-11**, adică compusului 2,3-O-izopropiliden-4,6-O-izopropiliden-N-acetil,N-metil-glucaminei (izomerii 3,5:4,6 și 2,5:4,6 fiind excluși de valorile deplasărilor unui carbon acetalic de la 109.32 și 109.117 (pentru cei doi conformeri) ce indică expres un ciclu dioxolanic).

Identificarea compuşilor din cele 4 spoturi separate a început de fapt cu analiza spotului 3 (**Figura 3-12**). Spectrometria de masă a derivatului triacetilat ($\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{O}_9\text{N}$) indică existența unei singure grupări izopropiliden ($m/z = 388(\text{M}-\text{CH}_3)$). Date de literatură cu privire la obținerea și caracterizarea acetalilor aminoalditolilor lipsesc cu desăvârșire astfel încât poziția grupării izopropilidenice trebuie stabilită. Analiza spectrului ^1H -RMN nu oferă nici un indiciu, deplasările chimice ale celor 8 atomi de hidrogen ai catenei liniare înscriindu-se în intervalul 4.2-3.2 ppm (**Anexa**

14). Pentru a împrăștiia atomii de hidrogen atașați atomilor de carbon ce conțin funcțiuni hidroxilice libere, **1** a fost derivatizat prin acetilare și apoi analizat prin ^1H -RMN. Experimentul COSY a permis prin stabilirea conectivităților, să se pună în evidență că deplasarea spre câmpuri mai joase, a avut loc pentru atomii H2, H3, H4, astfel încât poziția ciclului acetalic a fost clar stabilită. Natura ciclului a fost dedusă din deplasările chimice ale carbonului acetalic din spectru ^{13}C -RMN ce prezintă două semnale (corespunzătoare celor doi conformeri) la 109.361 și 109.125 ppm ceea ce indică un ciclu 1,3-dioxolanic și prin urmare spotul 3 corespunde compusului **1** din **Figura 3-11** adică : 5,6-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucamina. Stabilirea paternității atomilor de carbon din catena liniară s-a făcut prin experimente HETCOR și APT și este certă doar pentru C1, C5 și C6. Existența conformerilor „cis-trans” a fost pusă în evidență prin ridicarea temperaturii la 50 °C (fără atingerea coalescenței) când raportul inițial între conformeri de 2:1 = (trans):(cis) devine aproximativ 7.5:1 în favoarea conformerului *trans* (rapoarte stabilite prin măsurarea valorii integralelor celor doi singleți corespunzători celor 3 protoni din gruparea NCH_3). Obținerea cu preponderență a derivatului 5,6-O-izopropilidenic este în acord cu observațiile din literatură privind acetalizarea sub control cinetic a dietil-ditioacetalilor glucozei, galactozei și arabinozei [40-42].

Rearanjarea ciclului 1,3-dioxolanic cu formarea ciclului mai stabil termodinamic 1,3-dioxanic decurge lent la temperaturi scăzute [29, 39]. Acesta este și motivul pentru care cantitățile din spotul 2 și 4 sunt mult mai mici comparativ cu cele din spoturile 1 și 3. Inițial controlul CSS la 3, 6, 8 și 12 ore nu pune în evidență decât spoturile 1 și 3, spoturile 2 și 4 apar doar după 32 de ore.

Analiza spectrului ^{13}C -RMN a compusului corespunzător spotului 4 (**Figura 3-12**), deși îngreunată de prezența unor impurități, pune în evidență existența doar a ciclului 1,3-dioxanic (99.205 și 99.100 ppm) care, coroborat cu analiza diferenței deplasărilor atomilor de carbon metilici și cu spectrometria de masă, conduce la atribuirea structurii **4**, din **Figura 3-11**. Modul de lucru și descrierea spectrelor ^1H -RMN și ^{13}C -RMN sunt prezentate în partea experimentală [43].

B. Discuție privind Ciclohexiliden Acetalii

(identificarea compuşilor și natura ciclurilor)

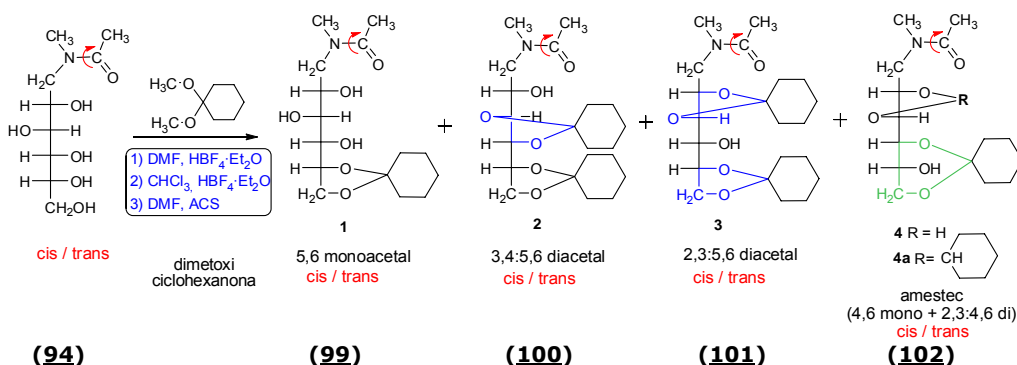
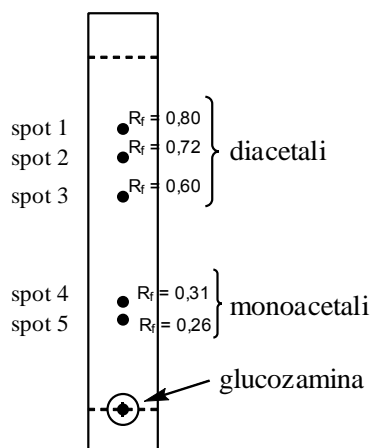


Figura 3-13. Sinteza Ciclohexiliden acetalilor N-acetil-N-metil-glucozaminei

AcOEt:MeOH = 90:10

**Figura 3-14.** Controlul TLC al amestecului de ciclohexiliden-acetali

Analizând spectrul ^{13}C -RMN al compusului corespunzător spotului 1 (**Figura 3-14**) se constată prezența a 4 semnale cuprinse între 172.11 și 170.99 ceea ce indică prezența a doi izomeri (fiecare cu doi conformeri). Cele 6 semnale cuprinse între 110.33 și 109.56 corespund la 4 atomi de carbon acetalici în cicluri 1,3-dioxolanice și aparțin la doi izomeri, ambii dicrohexilidenici care au câte doi conformeri. Existența izomerilor dicrohexilidenici având doar cicluri 1,3-dioxolanice este întărită și de analiza diferenței între valorile deplasărilor corespunzătoare grupelor metil care se plasează în intervalul 36.87 și 34.61 ppm. Se constată că diferența între oricare două valori cuprinse în acest interval este mai mică decât 5 și prin urmare compuşii posedă doar cicluri dioxolanice. Cei doi izomeri ce compun spotul 1 nu pot fi decât compuşii **2** și **3** din **Figura 3-13**, adică : 2,3 :5,6-di-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina respectiv 3,4 :5,6-di-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina. Poziționarea uneia din grupările ciclohexilidenice pe poziția 5,6 va fi justificată în continuare.

Analiza spectrului ^{13}C -RMN a compusului corespunzător spotului 2 (**Figura 3-14**) pune în evidență 4 semnale: 110.62 și 109.80 ppm ce corespund unui atom de carbon acetalic dintr-un ciclu 1,3-dioxolanic și la 99.89, 98.51 ppm ce corespund unui atom de carbon acetalic dintr-un ciclu 1,3-dioxanic. Dacă se admite că 5,6-ciclohexiliden derivatul format inițial se stabilizează în timp la izomerul 4,6-ciclohexilidenic mai stabil termodinamic, atunci spotul 2 nu poate corespunde decât compusului **4a** din **Figura 3-13**, adică compusului 2,3:4,6-di-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucaminei (izomerii 3,5:4,6 și 2,5:4,6 fiind excluși de valorile deplasărilor chimice ale unui carbon acetalic de la 110.32 și 109.80 (pentru cei doi conformeri) ce indică expres un ciclu dioxolanic).

Spotul 3 (**Figura 3-14**) prezintă în analiza MS(EI) picul molecular al unui derivat dicrohexilidenic ($m/z = 397(\text{M}^+)$). Multitudinea de semnale în jurul valorilor 109 ppm și 99 ppm lasă să se întrevadă un amestec de cel puțin doi, dacă nu trei

produși de rearanjare, conținând cicluri dioxolanice și dioxanice (nu și dioxepanice, deoarece lipsesc semnale la valori superioare 101 ppm).

Identificarea compușilor din cele 5 spoturi separate a început de fapt cu analiza spotului 4 (**Figura 3-14**). Spectrometria de masă a derivatului triacetilat ($C_{21}H_{33}NO_9$) indică existența unei singure grupări ciclohexiliden ($m/z=443$, (M^+)). Date de literatură cu privire la obținerea și caracterizarea acetalilor aminoalditolilor lipsesc cu desăvârșire, astfel încât poziția grupării ciclohexilidenice trebuie stabilită. Analiza spectrului 1H -RMN nu oferă nici un indiciu, deplasările chimice ale celor 8 atomi de hidrogen ai catenei liniare înscriindu-se în intervalul 4.15-3.48 ppm. Pentru a împrăștiia atomii de hidrogen atașați atomilor de carbon ce conțin funcțiuni hidroxicale libere, produsul a fost derivatizat prin acetilare și apoi analizat prin 1H -RMN (**Anexa 9, Anexa 10**).

Experimentul COSY a permis prin stabilirea conectivităților, să se pună în evidență că, deplasarea spre câmpuri mai joase, a avut loc pentru atomii H2,H3,H4 astfel încât poziția ciclului acetalic a fost clar stabilită. Natura ciclului a fost dedusă din deplasările chimice ale carbonului acetalic din spectru ^{13}C -RMN ce prezintă două semnale (corespunzătoare celor doi conformeri) la 109.71 și 110.0 ppm ceea ce indică un ciclu 1,3-dioxolanic și prin urmare spotul 4 corespunde compusului **1** din **Figura 3-13** adică : 5,6-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucamina.

Stabilirea paternității atomilor de carbon din catena liniară s-a făcut prin experimente HETCOR și APT și este certă doar pentru C1,C5 și C6. Existența conformerilor *cis-trans* a fost pusă în evidență prin ridicarea temperaturii la 50 °C (fara atingerea coalescenței) când raportul inițial între conformeri de 14:3 = *trans:cis* devine aproximativ 7:1 în favoarea conformerului *trans* (rapoarte stabilite prin măsurarea valorii integralelor celor doi singleți corespunzători celor 3 protoni din gruparea NCH_3). Obținerea cu preponderență a derivatului 5,6-O-ciclohexilidenic este în acord cu observațiile din literatură privind acetalizarea sub control cinetic a dietil-ditioacetalilor glucozei, galactozei și arabinozei [40-42].

Analiza spectrului ^{13}C -RMN al compusului corespunzător spotului 5 (**Figura 3-14**), deși îngreunată de prezența unor impurități, pune în evidență existența ciclului 1,3-dioxanic (99.230 și 99.240 ppm) și a fost atribuit compusului **4** din **Figura 3-13**, adică izomerului 4,6-ciclohexilidenic al N-acetil-N-metil-glucaminei. Modul de lucru și descrierea spectrelor 1H -RMN și ^{13}C -RMN sunt prezentate în partea experimentală. Descrierea structurii conformerilor s-a făcut separat pentru conformerul *cis* sau *trans* când spectrul a permis acest lucru. Descrierea spectrului 1HNMR pentru compusul 5,6-O-ciclohexiliden-(2,3,4-tri-O-acetil)-N-acetil-N-metil-glucozamină s-a făcut doar pentru conformerul *trans* (majoritar) [44].

C. Discuție privind Benziliden Acetalii

(identificarea compușilor și natura ciclurilor)

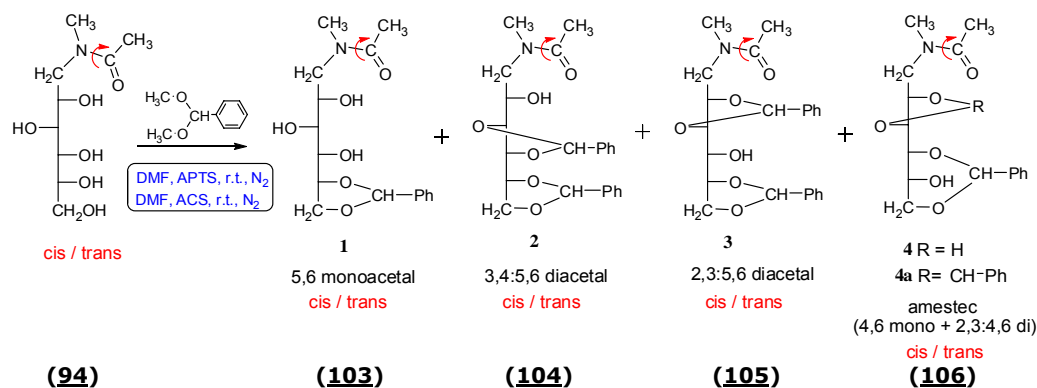


Figura 3-15. Sinteza benziliden acetalilor *N*-acetil-*N*-metil-glucosaminei

AcOEt:MeOH = 90:10

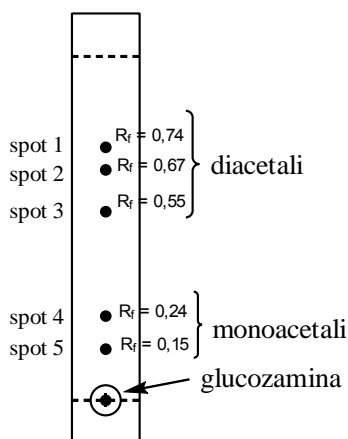


Figura 3-16. Controlul TLC al amestecului de benziliden acetali

Analiza spectrului ^{13}C -RMN a compusului corespunzător spotului 1 (**Figura 3-16**) pune în evidență prezența a 8 semnale în intervalul 169.4 - 171.2 ppm. Cele 4 semnale situate în intervalul 103.7 - 104.2 ppm corespund celor 4 atomi de C acetalici ai ciclului 1,3-dioxolanic și aparțin a 2 izomeri benzilidenici, fiecare cu câte 2 conformeri. Deplasările chimice în cazul ciclurilor 3-dioxolanice sunt la valori mai mici comparativ cu datele de literatură (103.7 - 104.2 ppm față de 108.1 - 115.7 ppm) datorită influenței grupei Ph [37, 38]. Astfel, cei 2 izomeri ce compun spotul 1 nu pot fi decât compușii **2** și **3** din **Figura 3-15**: 2,3:5,6-di-O-benziliden-*N*-acetil-*N*-metil-glucosamina și 3,4:5,6-di-O-benzilidene-*N*-acetil-*N*-metil-glucosamina. Atribuirea pozițiilor 5,6 la una din grupările benzilidenice va fi explicată continuare.

Analiza spectrului ^{13}C -RMN a compusului corespunzător spotului 2 (**Figura 3-16**, **Anexa 15**) pune în evidență 4 semnale:

- semnalele de la 103.7 și 104.5 ppm corespund unui C acetalic dintr-un ciclu 1,3-dioxolanic (spre deosebire de datele de literatură, semnalele sunt deplasate către o valoare mai mare a câmpului magnetic datorită influenței grupei Ph) [37, 38].

- semnalele de la 100.7 și 101.0 ppm corespund unui C acetalic dintr-un ciclu 1,3-dioxanic

Admițând că derivatul inițial mai stabil cinetic 5,6-benzilidenic, este stabilizat în timp la izomerul 4,6-benzilidenic mai stabil termodinamic (vezi în **Anexa 15**), rezultă că spotul 2 poate fi atribuit doar compusului **4a** (**Figura 3-15**) (2,3:4,6-di-O-benziliden-N-acetil-N-metil-glucozamina). Izomerii 3,5:4,6 și 2,5:4,6 sunt excluși deoarece deplasările chimice ale C acetalic de la 105.0 și 104.1 ppm aparțin evident unui ciclu dioxolanic.

Deoarece nu există date de literatură privind obținerea și caracterizarea benziliden aminoalditol acetalilor, poziția grupărilor benzilidenice trebuie de asemenea stabilită.

Analiza spectrului $^1\text{H-NMR}$ a compusului corespunzător spotului 4 (**Figura 3-16**) este dificilă și nu oferă nici un indiciu. Pentru a împrăștiia atomii de hidrogen atașați atomilor de carbon ce conțin funcțiuni hidroxilice libere corespunzătoare compusului din spotul 4, produsul a fost derivatizat prin acetilare și apoi analizat prin $^1\text{H-RMN}$ (**Anexa 12**).

Natura ciclului a fost dedusă din deplasările chimice ale C acetalic din spectrul $^{13}\text{C-RMN}$. Spectrul prezintă 2 semnale la 103.5 ppm și 103.9 ppm (corespunzătoare celor doi conformeri) ceea ce indică un ciclu 1,3-dioxolanic și prin urmare faptul că spotul 4 corespunde compusului **1** din **Figura 3-15** adică : 5,6-O-benziliden-N-acetil-N-metil-glucozaminei.

Poziția inelului 1,3-dioxolanic pe catena liniară a fost determinată prin experimente RMN monodimensionale (APT) și bidimensionale (COSY și HETCOR). Atribuirea atomilor de C din catena liniară s-a putut face prin experimente HETCOR și APT doar pentru C1 și C6. Existența conformerilor *cis-trans* a fost pusă în evidență în paragraful anterior la discuțiile pe izopropiliden și ciclohexiliden acetali, rezultatele fiind deja publicate [43, 44]. Obținerea cu preponderență a derivatului 5,6-O-acetalic a N-acetil-N-metil-glucozaminei este în acord cu observațiile din literatură privind acetalizarea sub control cinetic a dietil-ditioacetalilor glucozei, galactozei și arabinozei [40-42] precum și a izopropiliden și ciclohexiliden acetalilor de N-acetil-N-metil-glucozamină [43, 44].

Analiza spectrului $^{13}\text{C-RMN}$ a compusului corespunzător spotului 5 (**Figura 3-16**) pune în evidență existența ciclului 1,3-dioxanic (100.4 and 100.5 ppm) acesta fiind atribuit compusului **4** din **Figura 3-15** (izomerul 4, 6-benzilidenic al N-acetil-N-metil-glucozaminei). Benzilarea compusului **1** (spotul 4) (NaH, BnBr) urmată de hidroliza benziliden acetalului (I_2/MeOH) conduce în final la obținerea 2,3,4-tri-O-benzil-N-acetil-N-metil-glucozaminei. Acest compus a fost de asemenea obținut din 5,6-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina [43] și din 5,6-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina [44], structura lor fiind de asemenea publicată [43, 44]. Acești compuși au fost obținuți prin aceleași proceduri, compușii obținuți prezentând spectre IR identice. Cu toate acestea atribuirea structurii compusului **4** (spotul 5) a fost confirmată și prin metode chimice.

Descrierea structurilor a fost făcută pentru ambii conformeri în partea experimentală, fiind în prezent în curs de publicare [54] unele rezultate preliminare fiind publicate anterior [53].

3.2.3.A. SINTEZA MONO- ȘI DIESTERILOR N-ACETIL-N-METIL-GLUCAMINEI

A.1. Sinteza de Benziliden-acetali și Izopropiliden-acetali în condițiile catalizei cu APTS

Acetalizarea N-acetil-N-metil-glucaminei a fost realizată într-o primă etapă prin reacții de transacetalizare în mediu acid cu APTS [29] pentru sintetiza benziliden-acetalilor folosindu-se dimetoxibenzaldehidă. (**Figura 3-15**).

Sinteza Izopropiliden acetalilor a fost încercată inițial cu 2,2-dimetoxi-propan [29] dar, datorită randamentului mic obținut, în sintezele ulterioare s-a utilizat ca și reactant: 2-metoxi-propena [29] (**Figura 3-11**).

În condițiile de acetalare cu 2-metoxi propenă, atacul inițial la dubla legătură se face de către hidroxilul cel mai degajat steric [29, 39], întotdeauna un hidroxil primar, iar închiderea ciclului are loc întotdeauna cu hidroxilul secundar cel mai aproape de centrul de reacție, conform mecanismului prezentat în **Figura 3-17**.

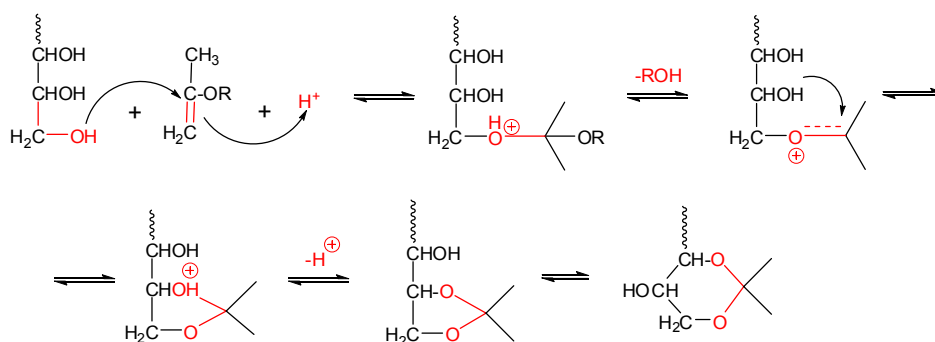

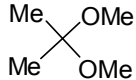
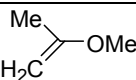


Figura 3-17. Mecanismul reacției de acetalare cu 2-metoxi propenă

Tabel 3-1. Sinteza benziliden și izopropiliden acetalilor în cataliza cu APTS - condiții de reacție

nr. crt.	Raport molar (NANMG:reactant)	Reactant	Catalizator	Solvent	Condiții de reacție	Obs.
1	1 : 1.4	$\text{H}_3\text{C}\cdot\text{O}$ CH  $\text{H}_3\text{C}\cdot\text{O}$	APTS	DMF	r.t., 48h, N ₂	η mic

2	1 : 1.3	 2,2 dimetoxipropan	APTS	DMF	r.t., 24h, N ₂	η mic
3	1: 1.2	 2-metoxi propena	APTS	DMF	r.t., 48h, N ₂	η mic

Concluzii: În condițiile reacției cu APTS [29] se obține un amestec de mono- și diacetali însă în ambele cazuri (atât la benziliden- cât și la izopropiliden-acetali) randamentul reacției este nesatisfăcător, controlul TLC nepunând în evidență consumarea întregii cantități de NMNAG nici după 48 h de la pornirea sintezelor.

A.2. Studiu privind sinteza de benziliden-acetali, ciclohexiliden-acetali și izopropiliden-acetali în condițiile catalizei cu ACS

În condițiile în care rezultatele obținute în sinteza Benziliden- și Izopropiliden-acetalilor folosind procedura cu APTS ca și catalizator au fost nesatisfăcătoare (randament mic de transformare a glucozaminei) s-a impus găsirea unei noi abordări în ceea ce privește sinteza acestora. Astfel sintezele Benziliden-, Ciclohexiliden- și Izopropiliden-acetalilor s-au realizat de această dată în condițiile catalizei cu ACS [29]. Optimizarea randamentului de transformare a glucaminei, s-a făcut prin controlul cinetic și termodinamic al reacțiilor.

În acest studiu s-au modificat următorii parametri de reacție: raportul molar al reactanților, timpul de reacție și temperatura la care s-au făcut sintezele.

Acetalizarea N-acetil-N-metil-glucaminei a fost realizată cu:

1. 2-metoxi propenă pentru obținerea Izopropiliden acetalilor,
2. dimetilacetalul ciclohexanonei pentru obținerea Ciclohexiliden acetalilor și
3. dimetilacetalul benzaldehidei pentru obținerea Benziliden acetalilor

A.2.1. Obținerea Benziliden Acetalilor prin cataliză cu ACS

Condițiile de reacție în care s-au realizat sintezele sunt prezentate pe scurt în **Tabelul 3-2**. S-a observat ca în condițiile primei reacții, glucozamina se consumă după aproximativ 72 h la r.t., creșterea raportului molar al reactanților determinând reducerea timpului necesar încheierii reacției de la 72 h la 48 h.

Controlul TLC (AcOEt:MeOH = 90:10) pune în evidență formarea unui amestec de produși de reacție, pe plăcuța fiind prezente 5 spoturi distincte ce corespund atât mono- cât și diacetalilor (**Figura 3-16**).

Tabel 3-2. Sinteza benziliden acetalilor în cataliza cu ACS - condiții de reacție:

nr. crt.	Raport molar (NANMG:reactant)	Catalizator	Solvent	temperatură
1	1 : 2	ACS	DMF	r.t., 72 h, N ₂
2	1 : 3	ACS	DMF	r.t., 48 h , N ₂

A.2.2. Obținerea Ciclohexiliden Acetalilor prin cataliză cu ACS:

S-au realizat sinteze în care s-au modificat raportului reactanților, timpul și temperatura de reacție (**Tabel 3-3**).

Tabel 3-3. Sinteza ciclohexiliden acetalilor în cataliză cu ACS - condiții de reacție:

nr. crt.	Raport molar (NANMG:reactant)	Catalizator	solvent	temperatură	Obs.
1	1 : 2	ACS	DMF	r.t.	72h, N ₂
2	1 : 2	ACS	DMF	0 °C → r.t.	24h, N ₂
3	1 : 3	ACS	DMF	r.t.	48h, N ₂

Studiile privind controlul cinetic al reacției sunt sumarizate în **Tabelul 3-4** de mai jos și au arătat următoarele:

a). păstrând același raport molar al reactanților, dar modificând temperatura la care are loc reacția, timpul de reacție scade considerabil, glucamina consumându-se după aproximativ 24 h în cazul (0 °C→r.t.), față de 72 h în cazul reacției la r.t.

b). creșterea raportului molar al reactanților NANMG:reactant = 1: 3 în aceleași condiții de reacție (r.t.) duce de asemenea la scăderea timpului necesar finalizării reacției, glucamina consumându-se după aproximativ 48 h.

Tabel 3-4. Influența temperaturii și raportului molar al reactanților asupra reacției

	Raportul molar (NANMG : reactant)	Temperatura reacției	Observații
1	↑ (crește)	ct.	favorizează formarea diacetalilor
2	ct.	↓(scade)	favorizează formarea monoacetalilor

A.2.3. Obținerea Izopropiliden Acetalilor prin cataliză cu ACS:

Utilizând ACS ca și catalizator s-au încercat 2 reacții, studiindu-se influența asupra randamentului de transformare a glucaminei și asupra vitezei reacției prin creșterea excesului de 2-metoxi propenă. Într-o primă reacție, la un raport molar al reactanților de 1 :1.4, glucamina se consumă integral după aproximativ 48 h. Prin modificarea raportului molar al reactanților de la 1:1.4 la 1:2 se observă că nu se influențează semnificativ reacția, glucamina consumându-se toată după aproximativ 48 h la 0 °C. De asemenea nici controlul TLC nu indică în aceste condiții de reacție formarea preferențială a mono- sau di-acetalilor. Condițiile de reacție sunt sumarizate în **Tabelul 3-5** de mai jos.

Tabel 3-5. Sinteza izopropiliden acetalilor în cataliză cu ACS - condiții de reacție:

Nr. crt.	Raport molar (NANMG:reactant)	Catalizator	Solvent	Temperatură
1	1: 1.4 (B)	ACS	DMF	0°C, 48h, N ₂
2	1 : 2.0 (B)	ACS	DMF	0°C, 48h, N ₂

A.2.4. Concluzii privind sintezele de acetali prin cataliză cu ACS:

- În condițiile de reacție cu ACS drept catalizator, în toate cele 3 cazuri (benziliden-, ciclohexiliden- și izopropiliden-acetali) se obține un amestec de mono- și diacetali.

- Analiza prin ¹³C-NMR în cazul diacetalilor a pus în evidență formarea atât a diacetalilor 1,3-dioxolanici (2,3 :5,6 ;3,4 :5,6) cât și a diacetalilor miciști dioxolanici și dioxanici (2,3 :4,6). Mici cantități de 4,6-monoacetali au fost puse în evidență și provin din rearanjarea ciclului dioxolanic cu formarea ciclului mai stabil termodinamic 1,3-dioxanic (procesul decurgând lent la temperaturi scăzute). Descrierea completă a spectrelor ¹H-NMR și ¹³C-NMR este dată în partea experimentală. Pentru simplificarea spectrelor RMN s-a încercat împrăștierea semnalelor din intervalul 3.2-4.3 ppm prin acetilarea mono- și diacetalilor sintetizați sau prin deacetilare la N.

A.3. Studii privind controlul cinetic și termodinamic al sintezelor de Ciclohexiliden-acetali și Izopropiliden-acetali în condițiile catalizei cu HBF₄

Condițiile optime de obținere a Benziliden, Ciclohexiliden și Izopropiliden acetalilor au fost stabilite în reacțiile realizate anterior. Acest studiu este consacrat optimizării condițiilor de reacție prin control cinetic și termodinamic, scopul fiind cel de a găsi condițiile care să favorizeze formarea cu preponderență a monoacetalilor.

În continuare, acetalizarea N-acetil-N-metil-glucaminei s-a realizat cu: 2-metoxi propenă pentru obținerea izopropiliden acetalilor și cu dimetilacetalul ciclohexanonei pentru obținerea ciclohexiliden acetalilor. Sintezele s-au realizat în condițiile catalizei cu HBF₄ [29, 45] modificându-se diverși parametrii de reacție: raportul molar al

reactanților, timpul de reacție și temperatura la care s-au făcut sintezele, solventul sau numărul de echivalenți de HBF_4 un sumar al condițiilor de reacție fiind prezentat în **Tabelele 3-6** și **3-7**. Reacțiile au fost monitorizate prin TLC.

A.3.1. Discuții:

Tabel 3-6. Sinteza ciclohexiliden acetalilor în cataliză cu HBF_4 - condiții de reacție:

nr. crt.	Raport molar (NANMG:reactant)	catalizator $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	solvent	Temp., timp
CH.1	1 : 3.2	1.0 eq	DMF	r.t., 24 h
CH.2	1 : 3	1.0 eq	DMF	0 °C, 2 h
CH.3	1 : 3	1.0 eq	CHCl_3	0 °C, 2 h
CH.4	1 : 1.5 până la 1 : 2	0.6 eq	CHCl_3	r.t., 24 h
CH.5	1 : 3	0.2 eq	CHCl_3	0 °C, 2 h

Reacția [CH.1] (Tabel 3-6): În reacția realizată conform procedurii din literatură [45] se obține un amestec de mono- și diacetali, glucamina consumându-se integral după aproximativ 24 h, fără a se observa însă o selectivitate în obținerea mono- sau diacetalilor.

Reacțiile [CH.2] și [CH.3] (Tabel 3-6): Prin scăderea temperaturii de la r.t. la 0 °C se încearcă obținerea selectivă a mono- sau diacetalului prin control cinetic. Scăderea timpului de reacție favorizează formarea monoacetalului. Se observa consumarea materialului de start după aproximativ 2 h la 0 °C.

Observații - spoturile corespunzătoare mono- și diacetalilor au aproximativ aceeași intensitate pe TLC. Nu se formează preferențial nici unul din mono- sau diacetali.

- CHCl_3 arată o mai bună selectivitate în obținerea monoacetalului în comparație cu DMF fără însă a o îmbunătăți semnificativ.

- după concentrare la evaporator, în urma controlului TLC s-a observat că monoacetalul s-a transformat în diacetal controlul pH-ului indicând o valoare $\text{pH}=6.5$

- în mediu acid se favorizează reacția de formare a diacetalului astfel că pentru obținerea cu preponderență a monoacetalului la stoparea reacției trebuie menținut un pH bazic ($\text{pH} \sim 8$) prin adăugare de Et_3N

În continuare s-a încercat optimizarea reacției (în sensul obținerii selective a monoacetalului) prin modificarea numărului de echivalenți de catalizator (CH.5) sau a temperaturii de reacție (CH.4)

Reacția (CH.4) (Tabel 3-6) Se realizează în CHCl_3 , se stopează la $\text{pH}=8$ și se folosește un raport al reactanților de 1:1.5

Observații: - spoturile corespunzătoare mono- și diacetalilor au aproximativ aceeași intensitate pe TLC. Nu se formează preferențial monoacetalii în schimb se observă că în comparație cu reacția CH.2 și CH.3 spoturile corespunzătoare monoacetalului sunt mai intense.

- la stoparea reacției trebuie adăugată Et_3N până la mediu bazic (până la $\text{pH}=8$) pentru a nu favoriza formarea diacetalilor la evaporarea solventului la rotavapor

- s-au folosit 0.6 eq $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ pentru a crea un mediu de reacție mai puțin acid și a încerca astfel favorizarea formării monoacetalilor.

Concluzie: - nu s-au observat modificări semnificative în sensul obținerii monoacetalilor ca și compuși majoritari.

- creșterea timpului de reacție favorizează formarea diacetalului. Încetinirea reacției se face prin creșterea temperaturii. În acest caz după aproximativ 24 h la r.t. TLC arată formarea predominantă a diacetalului (spot mai intens)

- la pH acid monoacetalul se transformă în diacetal

Reacția (CH.5) (Tabel 3-6). Se realizează în CHCl_3 , se folosesc 0.1 eq HBF_4 și se stopează reacția după ~2 h la 0°C și $\text{pH}=8$.

Observații. - spoturile corespunzătoare mono- și diacetalilor au aproximativ aceeași intensitate pe TLC. Nu se formează preferențial monoacetalii în schimb se observă că în comparație cu reacția CH.2 și CH.3 spoturile corespunzătoare monoacetalului sunt mai intense.

- la stoparea reacției trebuie adăugat Et_3N până la mediu bazic (până la $\text{pH}=8$) pentru a nu favoriza formarea diacetalilor la evaporarea solventului la rotavapor

- s-au folosit 0.2 eq $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ pentru a crea un mediu de reacție mai puțin acid și a încerca astfel favorizarea formării monoacetalilor.

Concluzie: - nu s-au observat modificări semnificative în sensul obținerii monoacetalilor ca și compuși majoritari.

- scăderea timpului de reacție favorizează formarea monoacetalului. Creșterea vitezei reacției se face prin menținerea temp la 0°C însă nu s-au observat modificări semnificative în sensul obținerii monoacetalilor ca și compuși majoritari.

- la pH acid monoacetalul se transformă în diacetal, de aceea pentru obținerea cu preponderență a monoacetalului la stoparea reacției trebuie menținut un $\text{pH} \sim 8$

Tabel 3-7. Sinteza izopropiliden acetalilor în cataliză cu HBF_4 - condiții de reacție:

nr. crt.	Raport molar (NANMG:reactant)	Catalizator $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	solvent	Temp., timp
1	1 : 1.5	0.1 eq	CHCl_3	0°C , 2 h

Obs.: - la folosirea a 0.1 eq $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ rămâne multă glucamină neconsumată
- la pH acid monoacetalul se transformă în diacetal, de aceea pentru obținerea cu preponderență a monoacetalului la stoparea reacției trebuie menținut pH-ul la $\text{pH} \sim 8$
- se formează preponderent diacetali. Spotul corespunzător monoacetalilor este slab, iar cel corespunzător diacetalilor este foarte intens.

Concluzie: - condițiile de reacție utilizate nu sunt favorabile formării monoacetalilor ca și compuși majoritari.

A.3.2. Concluzii la sinteza acetalilor prin cataliză cu HBF_4 :

- Cantitatea de catalizator nu influențează formarea preferențială a mono- sau diacetalilor ca și compuși majoritari
- CHCl_3 arată o mai bună selectivitate în obținerea monoacetalului în comparație cu DMF fără însă a o îmbunătăți semnificativ.
- Mediul acid favorizează formarea diacetalilor
- Creșterea vitezei de reacție (prin scăderea temperaturii) favorizează formarea monoacetalilor însă influența nu este semnificativă.

3.2.3.B INVESTIGAȚII PRIVIND SIMPLIFICAREA SPECTRELOR ^1H -RMN (PRIN ACETILAREA ACETALILOR SAU PRIN N-DEACETILAREA LOR)

Din cauza complexității spectrelor ^1H -RMN ale acetalilor, analiza lor este foarte dificilă, fiind astfel necesară simplificarea lor. Toți cei 8 protoni ai catenei liniare se dispun în intervalul 3.2-4.3 ppm, iar din cauza coexistenței în echilibru la temperatura la care are loc înregistrarea spectrului a conformerilor *cis-trans* datorati legăturii amidice (**Figura 3-10**) se dublează și numărul total al semnalelor.

Astfel, pentru a încerca simplificarea spectrelor RMN, s-au mai realizat o serie de reacții și anume:

- acetilarea cu anhidridă acetică a acetalilor sintetizați cu scopul de a „împrăștia” semnalele celor 8 protoni [subcap B.1]
- deacetilarea la N a acetalilor sintetizați pentru a elimina existența izomerilor *cis/trans* și a nu mai avea astfel o dublare a semnalelor în spectrul ^1H -RMN. S-a studiat de asemenea posibilitatea obținerii compușilor N-deacetilați și prin metoda acetalării NMG [subcap. B.2]
- tosilarea cu pTSCI a acetalilor sintetizați cu scopul de a împrăștia semnalele celor 8 protoni [subcap B.3]

O parte din acetalii benzilidenici, ciclohexilidenici și izopropilidenici au fost de asemenea caracterizați și ca derivați acetilați. Sintezele care au avut ca scop simplificarea spectrelor ^1H -RMN sunt subiectul acestui capitol.

B.1. ACETILARE ACETALI:

Într-o primă fază, înainte de a încerca acetilarea mono- sau diacetalilor obținuți, s-a verificat capacitatea de acetilare folosind ca și substrat NMNAG (N-metil-N-acetil-glucozamină) (**Figura 3-18**)

Apoi sinteza a fost repetată la: benziliden-monoacetali, benziliden-diacetali, ciclohexiliden-monoacetali, ciclohexiliden-diacetali, izopropiliden-monoacetal, izopropiliden-diacetali (**Figura 3-19** și **Figura 3-20**). Compușii acetilați au fost de asemenea caracterizați prin spectroscopie RMN, poziția H-lor pe catena liniară a fost determinată din experimente COSY, HETCOR și APT pentru derivații acetilați. În toate cele 3 cazuri s-a dovedit că deplasarea spre câmpuri mai joase are loc doar pentru semnalele atomilor H2, H3 și H4, poziția ciclului dioxolanic și dioxanic fiind astfel perfect stabilită.

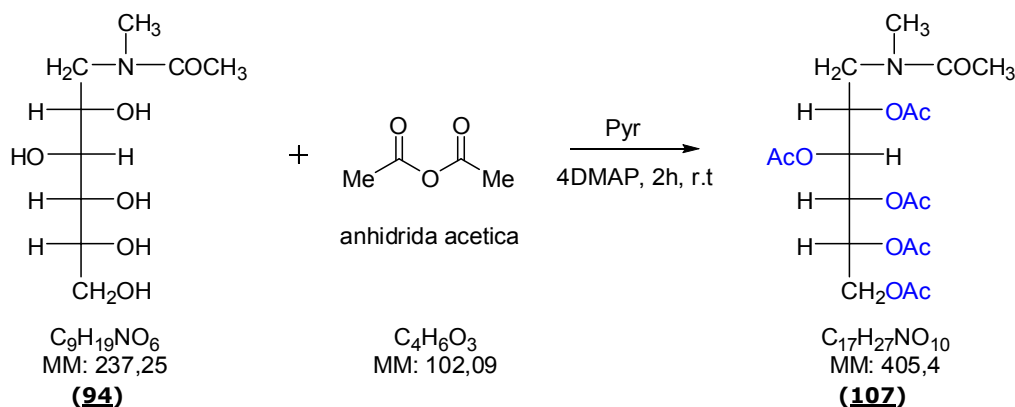


Figura 3-18. Acetilarea N-acetil-N-metil-glucozaminei

În cazul acetilării N-metil-N-acetil- glucozaminei (**Figura 3-18**) reacția de acetilare decurge foarte bine în condițiile date, astfel că metoda a fost aplicată în continuare și pe mono- și diacetalii sintetizați anterior (**Figura 3-19** și **Figura 3-20**) .

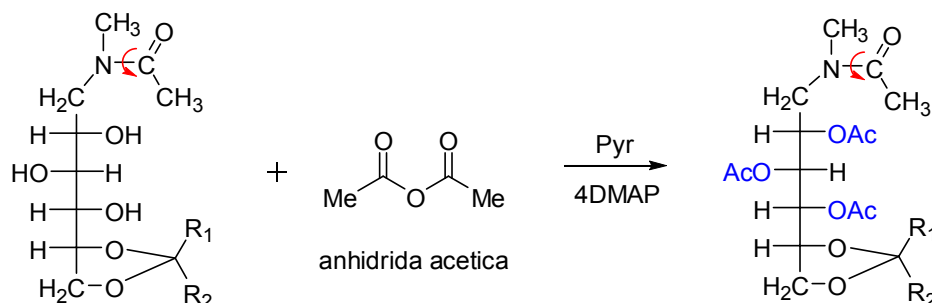


Figura 3-19. Acetilarea mono acetalilor ciclohexilidenici, izopropilidenici și benzilidenici ai *N*-acetil-*N*-metil-glucozaminei

108	(5,6 mono ciclohexiliden acetal)	$R_1=R_2 = (CH_2)_5$	5 h, r.t.
109	(5,6 mono izopropiliden acetal)	$R_1=R_2 = CH_3$	2 h, 0 °C
110	(5,6 mono benziliden acetal)	$R_1=H; R_2=C_6H_5$	2 h, r.t.

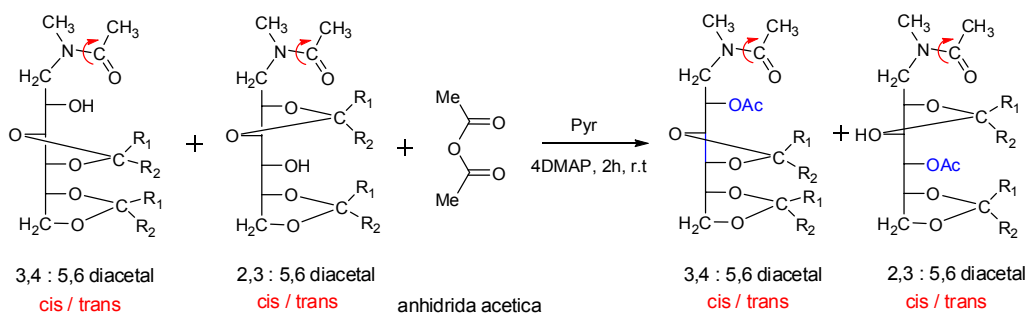


Figura 3-20. Acetilarea di-acetalilor ciclohexilidenici, izopropilidenici și benzilidenici ai *N*-acetil-*N*-metil-glucozaminei

111, 112	(di ciclohexiliden acetali)	$R_1=R_2 = (CH_2)_5$	5 h, r.t.
113, 114	(di izopropiliden acetali)	$R_1=R_2 = CH_3$	1 h, r.t.
115, 116	(di benziliden acetali)	$R_1=H; R_2=C_6H_5$	2 h, r.t.

B.2. OBȚINEREA COMPUȘILOR N-DEACETILAȚI:

Scopul deacetilărilor la N este de a elimina posibilitatea prezentei izomerilor *cis/trans*, (datorați rotației în jurul legăturii N-COCH₃), prin înjumătățirea numărului semnalelor încercându-se astfel simplificarea spectrului ¹H-RMN.

S-au realizat studii privind capacitatea de deacetilare a *N*-metil-*N*-acetil-glucaminei (**Figura 3-21**), precum și a derivaților acetalați ai *N*-acetil-*N*-metil-glucaminei (**Figura 3-22**, **Figura 3-23**), atât cu hidrazină cât și cu Na.

De asemenea s-a mai încercat și o alta metodă de obținere a acetalilor N-deacetilați și anume prin acetalarea directă a NMG. Această metodă a fost încercată la sinteza NMG-Ciclohexiliden acetalilor (**Figura 3-26**).

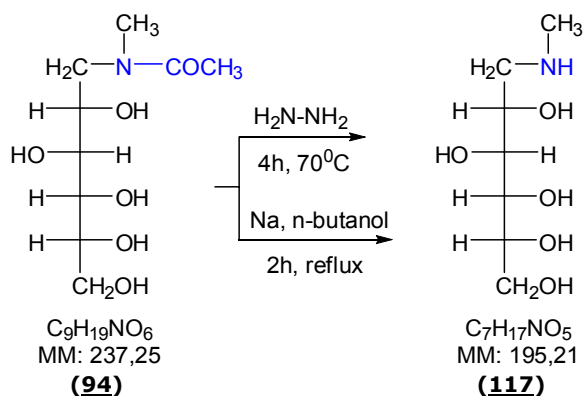


Figura 3-21. N-deacetilarea N-acetil-N-metil-glucozaminei

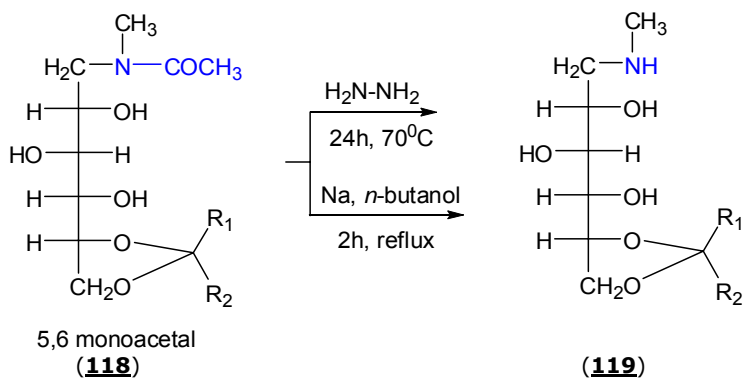


Figura 3-22. N-deacetilarea 5,6 mono acetalilor ciclohexilidenici și izopropilidenici ai N-acetil-N-metil-glucozaminei

118	(5,6 ciclohexiliden acetal)	$\text{R}_1=\text{R}_2 = (\text{CH}_2)_5$
119	(5,6 izopropiliden acetal)	$\text{R}_1=\text{R}_2 = \text{CH}_3$

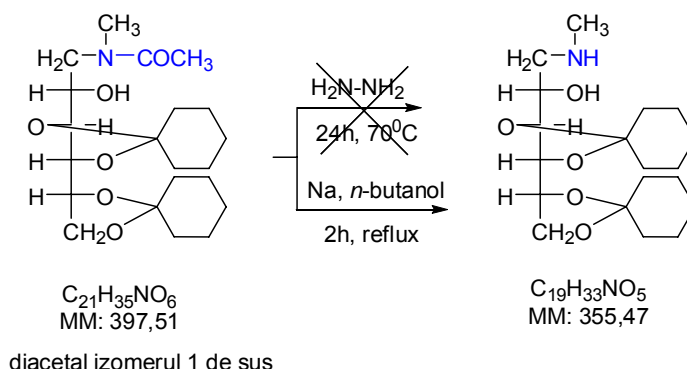


Figura 3-23. *N*-deacetilarea di-acetalilor ciclohexilidenici ai *N*-acetil-*N*-metil-glucozaminei

B.2.1 DEACETILĂRI ȘI DEACETALĂRI CU $\text{NH}_2\text{-NH}_2$

Într-o prima fază încercările s-au realizat pe glucozamină (**94**), diacetonglucoză, și dicitlohexiliden glucoză. Scopul a fost acela de a studia capacitatea de îndepărtare a grupei AcO la glucamină (**94**) (**Figura 3-21**), iar în cazul diacetone glucozei și al dicitlohexiliden glucozei verificarea influenței hidrazinei asupra stabilității grupărilor acetalice izopropiliden (**Figura 3-24**) și ciclohexiliden (**Figura 3-25**). Controlul reacțiilor s-a făcut prin TLC, produșii de reacție nefiind purificați și caracterizați prin MS sau RMN. În urma acestor sinteze s-a constatat că hidrazina rupe legătura N-COCH_3 însă fără a afecta și gruparea izopropil legată de C secundari sau gruparea ciclohexiliden legată de C secundari. Astfel că în continuare reacția de deacetilare cu hidrazină a fost încercată și pe unii din acetali sintetizați anterior.

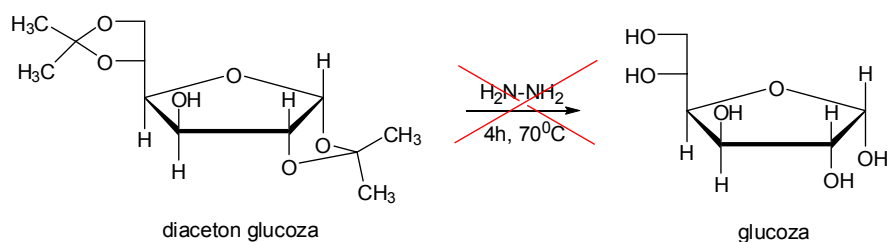


Figura 3-24. Încercări privind deacetilarea diacetone glucozei cu hidrazină

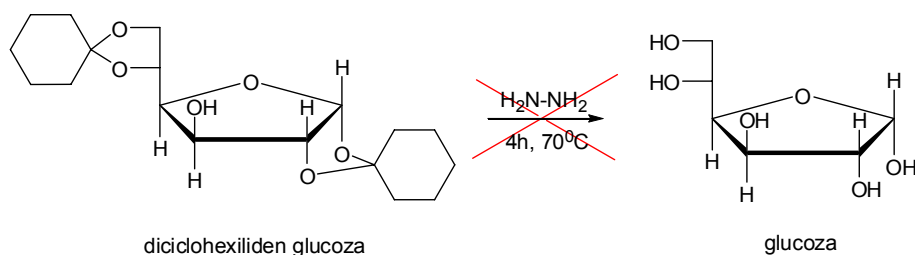


Figura 3-25. Încercări privind deacetalarea di-ciclohexiliden glucozei cu hidrazină

În cazul reacției hidrazinei cu ciclohexiliden diacetalii (cu izomerii 1 și 2 de sus) (**Figura 3-23**) reacția nu a avansat semnificativ nici după 72 h, o posibilă explicație fiind aceea că diacetalii nu sunt solubili în hidrazină. De asemenea s-a observat și o opacizare a balonului de reacție, aspect datorat faptului că hidrazina atacă sticla baloanelor de reacție (*bază tare+căldură+sticlă acidă*) și acest lucru influențând semnificativ randamentul scăzut al reacțiilor.

Datorita faptului că diacetalii nu sunt solubili în hidrazină, s-a încercat eficientizarea reacției prin adăugarea de diverși cosolvenți (EtOH, CHCl_3 , AcOEt sau Tol). Cel mai bine se solubilizează în EtOH însă nici așa reacția nu decurge satisfăcător, hidrazina neîndepărtând grupele acetat.

Pe de altă parte, în cazul reacției hidrazinei cu ciclohexiliden monoacetalul (**Figura 3-22**), monoacetalul este solubil în hidrazină iar controlul TLC arată că materialul de start s-a consumat după aproximativ 48 h. De asemenea are loc și reacția corespunzătoare monoizopropiliden acetalului (**Figura 3-22**), controlul TLC indicând și în acest caz finalizarea reacției după aproximativ 48 h.

În urma acestor studii privind capacitatea de deacetilare cu hidrazină se pot concluziona următoarele: hidrazina rupe legătura N-COCH_3 fără a afecta și grupările acetalice legate de atomii de C secundari, însă, datorită faptului că diacetalii nu sunt solubili în $\text{NH}_2\text{-NH}_2$, aplicabilitatea metodei este redusă doar la monoacetali, nefiind viabilă și în cazul diacetalilor. În continuare s-au realizat câteva studii privind capacitatea de îndepărtare a grupei Ac de la N și prin metoda cu Na.

B.2.2 DEACETILĂRI CU Na

În continuare este analizată capacitatea de îndepărtare a O-Ac din glucamină (**Figura 3-21**) precum și influența Na asupra grupărilor acetalice la unii dintre acetali sintetizați anterior. Prin ruperea legăturii N-OAc se elimină existența izomerilor *cis/trans*, ceea ce duce înjumătățirea numărului de semnale din spectrul $^1\text{H-RMN}$, simplificându-l și permițând astfel o atribuire mai ușoară și mai corectă a semnalelor H2-H5.

S-au făcut încercări pe monoacetali izopropilidenici și ciclohexilidenici (**Figura 3-22**) precum și pe diacetalii ciclohexilidenici (**Figura 3-23**).

Controlul reacțiilor s-a făcut prin TLC, produșii de reacție nefiind purificați și caracterizați prin MS sau RMN.

În cazul glucozaminei, deprotejarea are loc rapid în condițiile date ale reacției (2h, *n*-butanol la reflux) astfel că reacția a fost repetată și pe mono- și diacetalii deja sintetizați. În cazul monoacetalului izopropilidenic, monoacetalului ciclohexilidenic și diacetalului ciclohexilidenic, Na rupe legătura N-COCH₃ fără a afecta și gruparea izopropil legată de C secundari sau gruparea ciclohexiliden legată de C secundari.

În urma acestor studii privind capacitatea de deacetilare cu Na se pot concluziona următoarele: Na rupe legătura N-COCH₃ fără a afecta și grupările acetalice legate de atomii de C secundari și, spre deosebire de hidrazină, reacția cu Na este viabilă și în cazul diacetalilor.

B.2.3. OBTINEREA ACETALILOR N-DEACETILAȚI PRIN ACETALAREA NMG

În afara celor 2 metode de obținere a acetalilor deprotejați la N (prin deprotejare cu hidrazină sau cu Na), o altă posibilitate de obținere a acestora ar fi prin acetilarea directă a glucaminei deprotejate la N. Această metodă s-a studiat în condițiile catalizei acide cu HBF₄ încercându-se prin controlul cinetic obținerea selectivă doar a monoacetalilor sau doar a diacetalilor. Studiul s-a realizat pe ciclohexiliden acetali.

În ambele variante se obțin însă amestecuri de mono- și diacetal, fără a se obține ca și produs de reacție predominant doar mono- sau doar di-acetal.

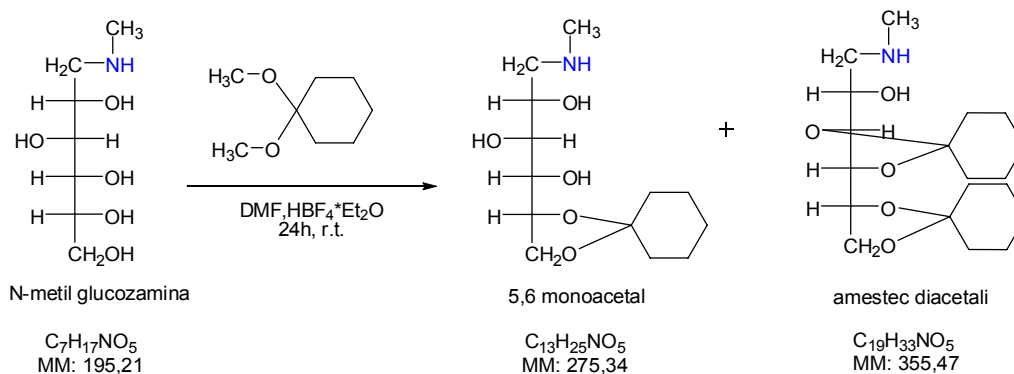


Figura 3-26. Obținere NMG-ciclohexiliden acetali prin acetalarea NMG

Tabel 3-8. Sinteza NMG-ciclohexiliden acetalilor prin acetalarea NMG – metode și condiții de reacție:

nr. crt.	Raport molar (NMG:DMCH)	catalizator	Solvent	Temp., timp
Metoda 1	1 : 1	HBF ₄ ·Et ₂ O (1eq)	DMF	r.t., 24 h
Metoda 2	1 : 3	HBF ₄ ·Et ₂ O (2eq)	DMF	r.t., 24 h

B.3. TOSILAREA COMPUȘILOR N-DEACETILAȚI

Scopul acestor reacții a fost împrăștierea semnalelor protonilor în spectrul ^1H -RMN și simplificarea atribuirii acestora.

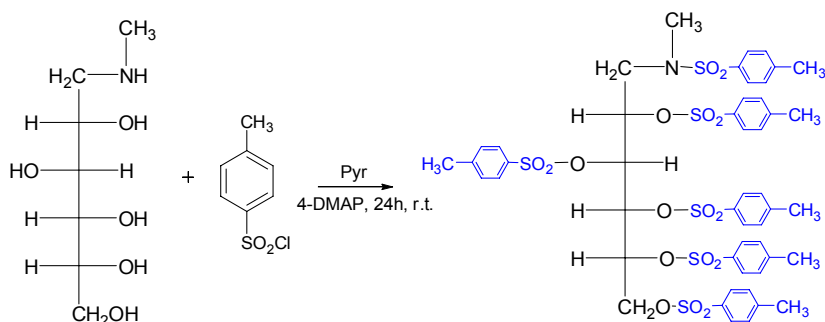


Figura 3-27. Tosilarea *N*-metil-glucozaminei

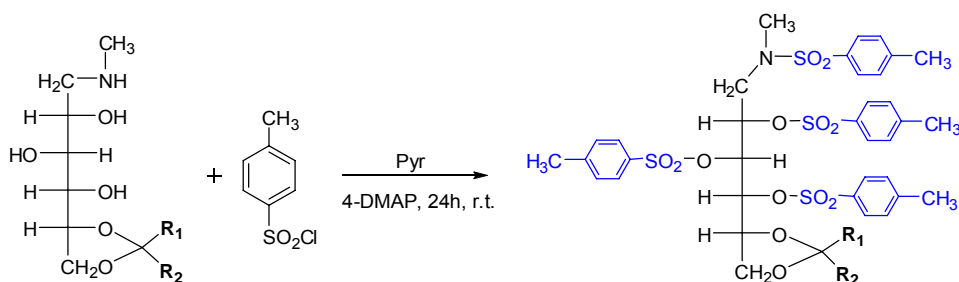


Figura 3-28. Tosilarea 5,6 monoacetalilor ciclohexilidenici și izopropilidenici ai *N*-metil-glucozaminei

1	(ciclohexiliden acetal)	$\mathbf{R_1=R_2 = (CH_2)_5}$	24 h, r.t.	Acetal: pTSCI 1 : 8
2	(izopropiliden acetal)	$\mathbf{R_1=R_2 = CH_3}$	24 h, r.t.	Acetal: pTSCI 1 : 8

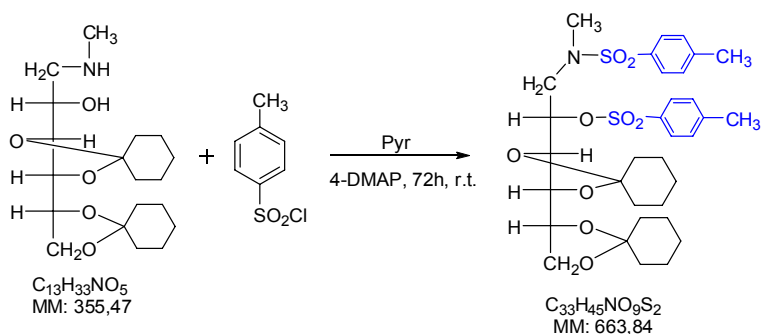


Figura 3-29. Tosilarea di-ciclohexiliden acetalului *N*-metil-glucozaminei

3.3. Concluzii 2 (Aminoalditol Acetali):

1. S-au sintetizat și analizat cu succes mono- și diesterii N-acetil-N-metil-glucaminei ca intermediari în obținerea pseudoceramidelor
2. S-au realizat în total aproximativ 45 de sinteze cu diferite proceduri și condiții de reacție obținându-se 35 de compuși diferiți. Dintre aceștia, 18 sunt compuși noi în literatură, ei fiind caracterizați prin MS și RMN.
3. S-a studiat reacția de obținere a benziliden-acetalilor, ciclohexiliden-acetalilor și izopropiliden-acetalilor în condițiile catalizei cu ACS, APTS și HBF_4
4. S-au făcut studii privind controlul cinetic și termodinamic al reacțiilor de acetalare în scopul obținerii monoacetalilor ca și produs de reacție predominant
5. S-au investigat proceduri de simplificare a spectrelor RMN a acetalilor sintetizați prin:
 - acetilarea cu anhidridă acetică a acetalilor sintetizați cu scopul de a împrăști semnalele celor 8 protoni
 - tosilarea cu pTSCI a acetalilor sintetizați cu scopul de a împrăști semnalele celor 8 protoni
 - deacetilarea la N a acetalilor sintetizați pentru a elimina existența izomerilor *cis/trans* și a nu mai avea astfel o dublare a semnalelor în spectrul ^1H -RMN
6. S-a investigat capacitatea de deacetilare la N a derivaților acetilați ai glucaminei precum și a glucaminei, atât cu $\text{NH}_2\text{-NH}_2$ cât și cu Na

Această parte a tezei a fost realizată la: Academia Română - Institutul de Chimie Timișoara în cadrul grupului de Glicobiologie al Departamentului de Chimie Organică, (conducător grup Conf. Dr. Eugen Șîșu)

3.4. Experimental (Mod de lucru și proceduri):

General (Materiale și metode):

Spectrele de rezonanță magnetică nucleară au fost înregistrate pe un aparat Varian Gemini 300MHz. Deplasările chimice sunt exprimate în ppm, iar constantele de cuplaj în Hz. Spectrele de masă au fost înregistrate la un instrument Varian FINNIGAN MAT212. CSS a fost efectuată pe plăci Kieselgel Merck cu indicator de fluorescență. Separările prin cromatografie flash s-au executat pe silice Aldrich de 220-400 Mesh. Vizualizarea cromatogramelor s-a făcut prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120 °C sau, după caz, prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ [21 g $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7$ + 1 g $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ + 31 ml H_2SO_4 + 469 ml H_2O] urmată de încălzire până la apariția unor spoturi colorate în albastru. Solvenții au fost anhidrificaliți conform uzanțelor cunoscute. Balonul de reacție a fost uscat în prealabil în etuvă 24 h la 120 °C înainte de pornirea reacției. În cazul sintezelor de acetali, balonul de reacție împreună cu agitatorul magnetic și compusul NANMG (N-acetil-N-metil-glucamină) au fost uscați înainte de pornirea reacției ~2 h în etuvă la 70 °C. În afara de cazul când se specifică altfel, reacțiile s-au realizat sub atmosfera de N_2 .

Obținerea Benziliden Acetalilor NANMG

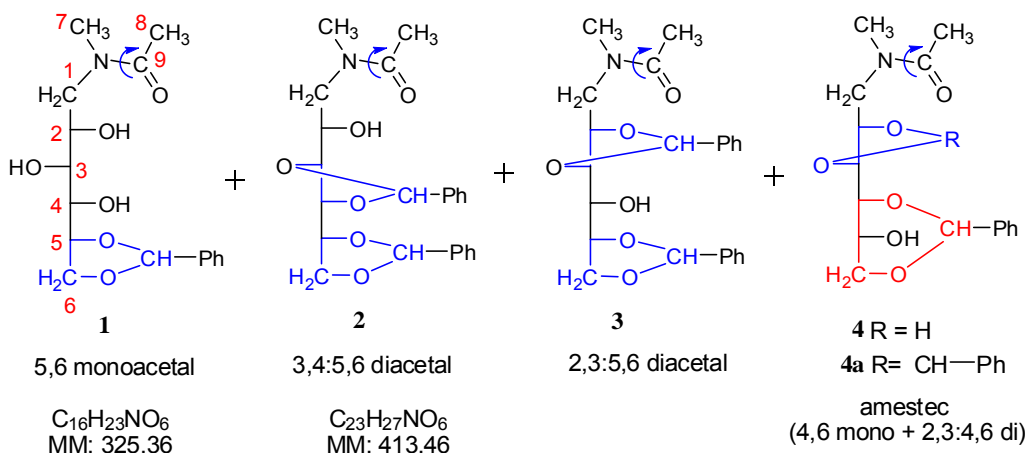


Figura 3-30. mono- și di-benziliden acetali (reacția din Figura 3-15)

Mod de Lucru:

Metoda 1: Obținere Benziliden Acetali (APTS)

La 0.77 g (3.27×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină dizolvate în 6.5 ml DMF se adaugă în picături 0.68 ml (1.4 eq, 4.5×10^{-3} moli) dimetoxibenzaldehidă iar apoi sub agitare o cantitate catalitică (0.037 g) de APTS. Se lasă amestecul de reacție

sub agitare la temperatura camerei sub atmosferă de N_2 . După 24 ore la temperatură de r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) încă indică prezența materiei prime. Se încălzește apoi amestecul de reacție la 50 °C și se mai lasă sub agitare încă 24 ore însă controlul CSS nu indică nici așa avansarea reacției. După 48 h de la pornirea reacției s-a mai adăugat dimetoxibenzaldehidă. După 2 h de la adăugare controlul CSS a arătat că reacția nu mai avansează.

TLC: AcOEt:MeOH = 95:5, vizualizare la lampa cu UV și prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7/Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: AcOEt:Tol = 95:5

Metoda 2: Obținere Benziliden Acetali (ACS)

La 2.0 g (8.0×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină solubilizați în 10 ml DMF de pe sită moleculară, se adaugă o cantitate catalitică (un vârf de spatulă) de ACS. Apoi în balonul aflat sub atmosferă de N_2 la r.t., se adaugă în picături, 2.4 ml (2 eq, 16×10^{-3} moli) dimetoxibenzaldehidă. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la r.t. sub atmosferă de N_2 și se monitorizează prin CSS. După aproximativ 20 min. amestecul ce a fost inițial lăptos se limpezește. După 72 ore de agitare la r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) încă mai indică prezența materialului de start. Reacția se oprește prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen și AcOEt. Deoarece spoturile sunt dificil de separat doar printr-o singură trecere prin coloana FC, s-a procedat la treceri repetate pentru separarea lor completă.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7/Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței la 120 °C (**Figura 3-16**).

FC: (cu gradient): FC¹. AcOEt:Tol 80:20 (pentru separarea izomerilor de sus, spoturile 1-3 de sus), FC². AcOEt și AcOEt:MeOH 97:3 (se mărește polaritatea pentru a grăbi colectarea spoturilor de jos)

Tabel 3-9. Condițiile de purificare a amestecului de reacție prin FC

nr. FC.	FC (cu gradient):	Purificare compuși (vezi TLC în Figura 3-16)
FC 1	AcOEt:Tol 78:22	pt. separarea spoturilor 1-3 de 4 și 5
	AcOEt	pt. eluarea mai rapidă a spoturilor 4 și 5
	AcOEt:MeOH 97:3	pt. eluarea mai rapidă a spoturilor 4 și 5
FC 2	Amestecurile obținute se purifică în continuare conform FC de la <u>Metoda 3</u>	

Metoda 3: Obținere Benziliden Acetali (ACS)

La 2.0 g (8.0×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină solubilizați în 10 ml DMF (sită moleculară 4A⁰), se adaugă o cantitate catalitică de ACS. Apoi în balonul aflat sub atmosferă de N_2 la r.t., se adaugă în picături, 2.4 ml (2 eq, 16×10^{-3} moli) dimetoxibenzaldehidă. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la r.t. sub atmosferă

de N_2 și se monitorizează prin CSS. După 24 ore de agitare la r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=90:10) încă mai indică prezența materialului de start. Se mai adaugă 1.2 ml (1 eq, 8×10^{-3} moli) dimetoxibenzaldehidă. După 72 ore reacția se oprește prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen și AcOEt. Reziduul obținut urmează a fi supus purificării prin FC. Deoarece spoturile sunt dificil de separat doar printr-o singură trecere prin coloană, s-a procedat la treceri repetate pentru separarea lor completă.

Obs.: pentru FC (vezi Metoda 2)

TLC: AcOEt:MeOH = 90:10, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2MoO_7$ / $Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței la 120 °C.

R_f (glucamina) = este în start, R_f (monoacetali) = 0.74 (spotul 1), 0.67 (spotul 2), 0.55 (spotul 3), R_f (diacetali) = 0.24 (spotul 4), 0.15 (spotul 5) (vezi **Figura 3-16**)

Tabel 3-10. Condițiile de purificare a amestecului de reacție prin FC

nr. crt.	FC	Separare compuși (vezi TLC în Figura 3-16)	treceri coloană
FC 1 gradient	AcOEt:Tol 78:22	pt. separarea spoturilor 1, 2, 3 de spoturile 4, 5	1
	AcOEt:MeOH 80:20	pt. eluarea mai rapidă a spoturilor 4 și 5	
FC 2	AcOEt:Tol 78:22	Separarea izomerilor 1 și 2 de sus (spoturile 1, 2) din amestecul celor 3 izomeri de sus	2
FC 3	AcOEt:Tol 75:25	Purificarea spotului 1	2
FC 4	AcOEt:Tol 75:25	Purificarea spotului 2	2
FC 5	AcOEt:Tol 75:25	Separarea spotului 3 din amestecul celor 3 de sus	3
FC 6	AcOEt:Tol 78:22	Purificarea spotului 3 de sus	1
FC 7	AcOEt:MeOH 90:10	pt. separarea spoturilor 4 și 5 de jos de spoturile de sus	4
FC 8	AcOEt:MeOH 90:10	Purificarea spotului 4 din amestecul de jos	1
FC 9	AcOEt:MeOH 90:10	Purificare spotului 5 din amestecul de jos	2

1H -RMN, ^{13}C -RMN, MS:

Notă explicativă: Numărul de atomi de C și H din descrierea spectrelor ^{13}C -RMN și 1H -RMN se referă doar la nr. de atomi de C și H dintr-un singur izomer (cis/trans) (sau la cel din amestecul de izomeri 2 și 3, după caz). În spectru, datorită izomerilor cis/trans, numărul semnalelor este dublu. Spoturile 1-5 sunt cele reprezentate în **Figura 3-16**.

Spotul 1 ($C_{23}H_{27}NO_6$), (amestec al izomerilor **2** și **3** din **Figura 3-30**): 2,3:5,6- di-O-benziliden- N-acetil-N-metil-glucozamina (**3**) + 3,4:5,6- di-O-benziliden- N-acetil-N-metil-glucozamina (**2**)

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$): δ_H

7.33-7.51 (20H, m, $\underline{5xCH}$ din Ph1, $\underline{5xCH}$ din Ph2, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*)),

5.88-6.00 (4H, m, O- \underline{CH} -Ph1 și O- \underline{CH} -Ph2, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

4.51-3.27 (12H, m, $\underline{H2}$, $\underline{H3}$, $\underline{H4}$, $\underline{H5}$, C(6) $\underline{H2}$, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

3.07-2.90 (10H, m, N- $\underline{CH3}$, N-C(1) $\underline{H2}$ -C2, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

2.71, 2.75 (2H, 2s, C(3)-O \underline{H} din izomerul 2, C(4)-O \underline{H} din izomerul 3, (*cis*, *trans*))

2.09-1.94 (6H, m, N-CO $\underline{CH3}$ din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

^{13}C -RMN (75MHz, $CDCl_3$) δ_H :

170.86, 171.27, 171.34, 171.38 (2C, N- $\underline{C=O}$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

136.45-137.91 (semnale multiple) (4C, 2x \underline{C} din Ph, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

129.50-126.23 (semnale multiple) (20C, 10x \underline{CH} din Ph, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

102-92-104.52 (semnale multiple) (4C, 2x \underline{CH} -Ph, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

76.18-80.36 (semnale multiple) (7C, $\underline{C2}$, $\underline{C3}$, $\underline{C5}$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*), $\underline{C4}$ -OH din izomerul 3, (*cis*, *trans*))

70.68, 70.94 (1C, $\underline{C2}$ -OH din izomerul 2, (*cis*, *trans*))

68.63, 68.33, 68.22, 67.69 (2C, $\underline{C6}$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

48.41, 48.54, 48.95, 49.07 (2C, $\underline{C1}$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

37.11, 37.57, 37.81, 37.95 (2C, $\underline{CH3}$ -N, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

21.21, 21.26, 21.51, 21.61 (2C, N-CO $\underline{CH3}$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

Spotul 2 ($C_{23}H_{27}NO_6$) (compusul **4a** din **Figura 3-30**): 2, 3 :4, 6-di-O-benziliden- N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), 22eV, ($C_{23}H_{27}NO_6$), m/z= 413(M^{+})

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$): δ_H

7.36-7.50 (10H, m, $\underline{5xCH}$ din Ph1, $\underline{5xCH}$ din Ph2, (*cis*, *trans*)),

5.61-6.08 (2H, m, O- \underline{CH} -Ph1 și O- \underline{CH} -Ph2, (*cis*, *trans*))

3.39-4.51 (8H, m, $\underline{H1a}$, $\underline{H1b}$, $\underline{H2}$, $\underline{H3}$, $\underline{H4}$, $\underline{H5}$, $\underline{H6a}$, $\underline{H6b}$, (*cis*, *trans*))

3.08, 3.09 (3H, s, N- $\underline{CH3}$, (*cis*, *trans*))

2.92, 2.95 (1H, s, C(5)-O \underline{H} , (*cis*, *trans*))

2.06, 2.07 (3H, m, N-CO $\underline{CH3}$, (*cis*, *trans*))

^{13}C -RMN (75MHz, $CDCl_3$)

171.97, 171.46, (1C, N- $\underline{C=O}$, (*cis*, *trans*))

137.97, 137.50, (2C, \underline{C} din Ph, (*cis*, *trans*))
 129.61, 129.57, 129.41, 129.35, 129.09, 128.99, 128.38, 128.28, 128.27, 128.17, 126.71, 126.61, 126.55, 126.43, 126.34, 125.92, (10C, \underline{CH} din Ph, (*cis*, *trans*))
 104.52, 104.33, 103.70, (1C, \underline{CH} -Ph, (*cis*, *trans*)), din ciclul dioxolanic
 101.02, 100.90, 100.76, (1C, \underline{CH} -Ph, (*cis*, *trans*)), din ciclul dioxanic
 78.69-68.56 (semnale multiple), (4C, $\underline{C2}$, $\underline{C3}$, $\underline{C4}$, $\underline{C5}$, (*cis*, *trans*))
 67.91, 67.55, (1C, $\underline{C6}$, (*cis*, *trans*))
 49.02, 48.91, (1C, $\underline{C1}$, (*cis*, *trans*))
 38.42, 38.16, (1C, N- \underline{CH}_3 , (*cis*, *trans*))
 21.75, 21.63, (1C, CO \underline{CH}_3 , (*cis*, *trans*))

Spotul 3, ($C_{23}H_{27}NO_6$): Amestec de derivați di-O-benzilidenici, posibil izomeri de rearanjare

Spotul 4 ($C_{16}H_{23}NO_6$) (compusul **1** din **Figura 3-30**): 5,6-O-benziliden-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (24eV) ($C_{16}H_{23}NO_6$), $m/z=325$, ($M^{+\cdot}$)

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$): δ_H

7.35, 7.36, 7.43, 7.44, 7.45 (5H, m, $\underline{5xCH}$ din Ph, (*cis*, *trans*))
 5.76, 5.89 (1H, 2s, O- \underline{CH} -Ph, (*cis*, *trans*))
 3.48-3.56 (2H, 2dd, $\underline{H1_a}$, $\underline{H1_b}$, (*cis*, *trans*))
 4.24-4.29 (2H, m, $\underline{H6_a}$, $\underline{H6_b}$, (*cis*, *trans*))
 3.59-4.31 (4H, m, $\underline{H2}$, $\underline{H3}$, $\underline{H4}$, $\underline{H5}$, (*cis*, *trans*)); (3H, m, $3xCH-OH$, (*cis*, *trans*))
 3.02, 3.08 (3H, 2s, N- \underline{CH}_3 , (*cis*, *trans*))
 2.11, 2.09 (3H, 2s, N-CO \underline{CH}_3 , (*cis*, *trans*))

^{13}C -RMN (75MHz, $CDCl_3$)

173.06, (1C, N- $\underline{C=O}$, (*cis*, *trans*))
 137.87, 137.29, (1C, \underline{C} din Ph, (*cis*, *trans*))
 129.28, 129.13, 128.26, 128.19, 126.54, 126.44, 126.33, 126.31, 126.03, (5C, \underline{CH} din Ph, (*cis*, *trans*))
 103.98, 103.57, (1C, \underline{CH} -Ph, (*cis*, *trans*))
 74.02, 73.60, 72.47, 72.43, 70.09, 69.74, 69.67, 68.17, (4C, $\underline{C2}$, $\underline{C3}$, $\underline{C4}$, $\underline{C5}$, (*cis*, *trans*))
 68.17, (1C, $\underline{C6}$, (*cis*, *trans*))
 51.63, (1C, $\underline{C1}$, (*cis*, *trans*))

38.01, 37.95, (1C, $\underline{\text{CH}}_3\text{-N}$, (*cis*, *trans*))

21.63, 21.58, (1C, $\underline{\text{CH}}_3\text{-CO}$, (*cis*, *trans*))

Spotul 5 ($\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_6$), (compusul **4** din **Figura 3-30**): 4, 6-O-benziliden-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (24eV) ($\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_6$), $m/z=325$, ($\text{M}^{+\cdot}$)

^1H -RMN (300MHz, CDCl_3): δ_{H}

7.45-30 (5H, m, $\underline{5}\text{xCH}$ din Ph, (*cis*, *trans*))

5.92, 5.88 (1H, 2s, O- $\underline{\text{CH}}$ -Ph, (*cis*, *trans*))

3.76-4.44 (8H, m, $\underline{\text{H}}_{1\text{a}}$, $\underline{\text{H}}_{1\text{b}}$, $\underline{\text{H}}_2$, $\underline{\text{H}}_3$, $\underline{\text{H}}_4$, $\underline{\text{H}}_5$, $\underline{\text{H}}_{6\text{a}}$, $\underline{\text{H}}_{6\text{b}}$, (*cis*, *trans*))

4.32-4.20 (3H, m, 3xCH-O $\underline{\text{H}}$, (*cis*, *trans*))

3.10, 3.05 (3H, 2s, N- $\underline{\text{CH}}_3$, (*cis*, *trans*))

2.05, 2.03 (3H, 2s, N-CO $\underline{\text{CH}}_3$, (*cis*, *trans*))

^{13}C -RMN (75MHz, CDCl_3)

172.18, (1C, N- $\underline{\text{C}}=\text{O}$, (*cis*, *trans*))

137.73, 137.33, (1C, $\underline{\text{C}}$ din Ph, (*cis*, *trans*))

128.38, 128.27, 128.20, 126.75, 126.67, 126.56, 126.42, 126.23, 125.97, (5C, $\underline{\text{CH}}$ din Ph, (*cis*, *trans*))

100.59, 100.47, (1C, $\underline{\text{CH}}$ -Ph, (*cis*, *trans*))

79.53, 79.09, 78.40, 78.34, 78.04, 72.38, 72.24, 70.13, 69.57, 69.30, 62.71 (4C, $\underline{\text{C}}_2$, $\underline{\text{C}}_3$, $\underline{\text{C}}_4$, $\underline{\text{C}}_5$, (*cis*, *trans*))

63.44, (1C, $\underline{\text{C}}_6$, (*cis*, *trans*))

49.50, 49.11, (1C, $\underline{\text{C}}_1$, (*cis*, *trans*))

38.47, 38.41, (1C, N- $\underline{\text{CH}}_3$, (*cis*, *trans*))

21.72, 21.59, (1C, N-CO $\underline{\text{CH}}_3$, (*cis*, *trans*))

Obținerea Ciclohexiliden Acetalilor NANMG

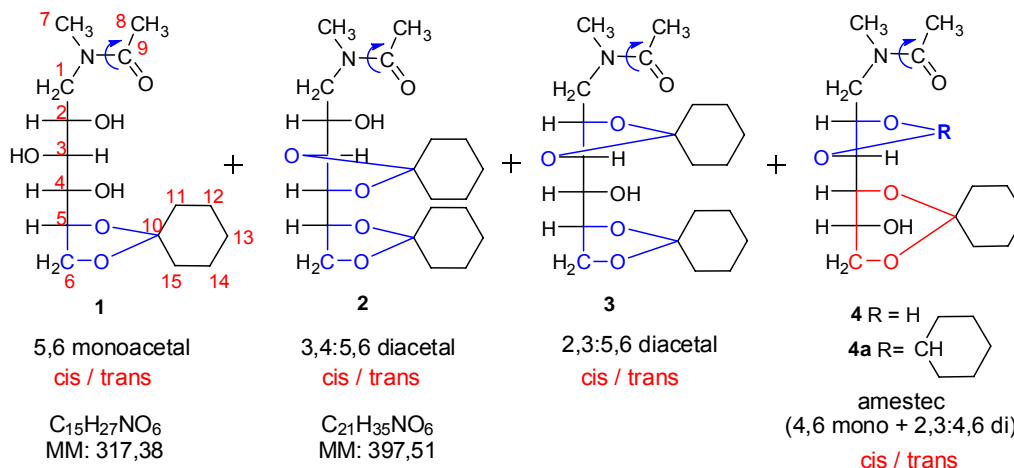


Figura 3-31. mono- și di-ciclohexiliden acetali (reacția din **Figura 3-13**)

Mod de Lucru:

Metoda 1: Obținere Ciclohexiliden Acetali (ACS)

La 0.950 g (4.0×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină în 6 ml DMF de pe sită moleculară se adaugă o cantitate catalitică (un vârf de spatulă) de ACS. Apoi în balonul scufundat în gheață și aflat sub pernă de N_2 se adaugă în picături 1.2 ml (2 eq, 8×10^{-3} moli) dimetoxiciclohexan. Se lasă gheața să se topească și apoi amestecul de reacție sub agitare la r.t. sub atmosferă de N_2 până a 2-a zi. După aproximativ 24 ore de agitare la r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) indică consumarea materialului de start. Reacția se oprește prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen și AcOEt.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7$ /Ce(SO₄)₂ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: AcOEt:Tol 80:20 (pentru separarea spoturilor de sus de cele de jos)

Metoda 2: Obținere Ciclohexiliden Acetali (ACS)

La 1.0 g (4.0×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină în 5 ml DMF de pe sită moleculară se adaugă o cantitate catalitică (un vârf de spatulă) de ACS. Apoi în balonul aflat sub pernă de N_2 se adaugă la r.t., în picături 1.6 ml (3eq, 11×10^{-3} moli) dimetoxiciclohexan. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la r.t. sub atmosferă de N_2 și se monitorizează prin CSS. După aproximativ 48 ore de agitare la r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) indică consumarea materialului de start. Reacția se oprește prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen și AcOEt.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

$R_f(\text{glucamina}) =$ este în start, $R_f(\text{monoacetal}) = 0.33$, $R_f(\text{diacetal}) = 0.64$

FC: AcOEt:Tol 80:20 (pentru separarea izomerilor de sus de cei de jos)

Metoda 3: Obținere Ciclohexiliden Acetali (ACS)

La 2.0 g (8.0×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină în 10 ml DMF de pe sită moleculară, se adaugă o cantitate catalitică (un vârf de spatulă) de ACS. Apoi în balonul aflat sub pernă de N_2 la r.t., se adaugă în picături 3.2 ml (2eq, 16×10^{-3} moli) dimetoxiciclohexan. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la r.t. sub atmosferă de N_2 și se monitorizează prin CSS. După câteva min. sub agitare, amestecul ce a fost inițial lăptos se limpește. După 48 ore de agitare sub N_2 la r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) încă mai indică prezența materialului de start. Reacția se oprește după 5 zile (când TLC a indicat consumarea materialului de start) prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen și AcOEt. *La r.t. reacția este lentă, materialul de start consumându-se complet după aproximativ 5 zile.*

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței la 120 °C.

$R_f(\text{glucamina}) =$ este în start, $R_f(\text{monoacetali}) = 0.58$ (spotul 1 de sus), 0.49 (spotul 2 de sus), $R_f(\text{diacetali}) = 0.17$ un singur spot pe TLC

TLC: AcOEt:MeOH=90:10, $R_f(\text{monoacetali}) = 0.80$ (spotul 1 de sus), 0.72 (spotul 2 de sus), 0.60 (spotul 3 de sus), $R_f(\text{diacetali}) = 0.31$ (spotul 4 de sus în jos), 0.26 (spotul 5 de sus în jos).

FC: căutare sisteme de eluare pentru separarea celor 2 izomeri de sus:

Tol:MeOH 80:20, Tol:MeOH 90:10, Tol:MeOH 80:20 (cei 2 izomeri sunt la același R_f), Tol:EtOH 80:20, Tol:EtOH 85:15, Tol:EtOH 90:10, Tol:EtOH 88:12

Tabel 3-11. Condițiile de purificare ale amestecurilor de reacție prin FC

nr. FC	FC	Separare compuși (vezi TLC în Figura 3-14)	Treceri coloană
FC 1	AcOEt:Tol 80:20	pt. separarea spoturilor 1-3 de sus de spoturile 4, 5 de jos	1
FC 2 gradient	AcOEt:Tol 78:22	pt. separarea spoturilor 1-3 de sus de spoturile 4, 5 de jos	1
	AcOEt:MeOH 95:5	pt. eluarea mai rapidă a spoturilor 4, 5 de jos	
FC 3	AcOEt:Tol 78:22	Separarea și purificarea spoturilor 1, 2 și 3 din amestecul celor 3 spoturi de sus	2

FC 4	AcOEt:MeOH 95:5	Separarea și purificarea spoturilor 4, 5 din amestecul celor 2 spoturi 4, 5 de jos	2
------	-----------------	---	---

Obs.: - Estimarea randamentului de obținere a monociclohexiliden acetalilor (cumulat pentru reacțiile de la Metodele 1-3: 18.7%)

- După separarea acetalilor prin FC aceștia au fost recristalizați din AcOEt.

Metoda 4: Obținere Ciclohexiliden Acetali (HBF_4)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 1.0 g (4.23×10^{-3} moli) compus NANMG (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70 °C) se adaugă 1.85 ml (3.2 eq, 13.54×10^{-3} moli) 1,1-dimetoxi ciclohexan și 5 ml DMF. În balonul scufundat în gheață se mai adaugă apoi 0.58 ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (1 eq, 4.23×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare până a 2-a zi până când controlul TLC indica sfârșitul reacției. După aceea se adaugă (cu balonul scufundat în gheață) ~ 2 ml Et_3N .

TLC: AcOEt:MeOH 60:40, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ [$21\text{g}(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7 + 1\text{g Ce}(\text{SO}_4)_2 + 31\text{ml H}_2\text{SO}_4 + 469\text{ ml H}_2\text{O}$] urmată de încălzire la 120 °C .

Metoda 5: Obținere Ciclohexiliden Acetali (HBF_4)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 1.0 g (4.23×10^{-3} moli) N-acetil-N-metil-glucozamină (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70 °C) se adaugă 1.9 ml (3 eq, 12.66×10^{-3} moli) 1,1-dimetoxi ciclohexan și 5 ml DMF. În balonul scufundat în gheață se mai adaugă apoi 0.7 ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (1 eq, 4.23×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare la 0 °C și se monitorizează prin TLC. După 2 h, controlul TLC indică consumarea materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 2 ml Et_3N în picături. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen.

TLC: AcOEt:MeOH 90:10 (R_f material de start = în start, R_f monoacetali = 0.28-0.34, R_f diacetali = 0.62-0.72), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzire până la apariția unor spoturi albastre.

FC: AcOEt:MeOH 90:10

Metoda 6: Obținere Ciclohexiliden Acetali (HBF_4)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 1.0 g (4.23×10^{-3} moli) N-acetil-N-metil-glucozamină (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70 °C) se adaugă 1.9 ml (3 eq, 12.66×10^{-3} moli) 1,1-dimetoxi ciclohexan și 5 ml CHCl_3 . Peste amestecul de reacție în balonul scufundat în gheață se mai adaugă 0.7 ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (1 eq, 4.23×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare la 0 °C și se monitorizează prin TLC. După 2 h controlul TLC indică consumarea materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 2 ml Et_3N în picături. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen.

TLC: AcOEt:MeOH 90:10 (R_f material de start = în start, R_f monoacetali = 0.28-0.34, R_f diacetali = 0.62-0.72), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzire la 120 °C .

FC (împreună cu amestecul de la Metoda 7): AcOEt : MeOH 90:10 – Sistem pentru separarea spoturilor de jos de cei de sus. Se separă monoacetal (izomer 1 de jos + amestec izomeri 1 și 2 de jos), amestec izomeri de sus (diacetali) și amestec de mono- și diacetali (5 izomeri)

Metoda 7: (HBF_4 , CHCl_3 , topul reacției la pH=8, raport reactanți 1:1.5)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 3.0 g (12.66×10^{-3} moli) N-acetil-N-metil-glucozamină (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70 °C) se adaugă 2.9 ml (1.5 eq, 19.00×10^{-3} moli) 1,1-dimetoxi ciclohexan și 13 ml CHCl_3 . Peste amestecul de reacție, în balonul scufundat în gheață se mai adaugă 1.0 ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (0.6 eq, 7×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare la 0 °C până la topirea gheții iar apoi la r.t. până a 2-a zi și se monitorizează prin TLC. După 24 h controlul TLC indică consumarea materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 2 ml Et_3N în picături până la pH=8. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen.

TLC: AcOEt:MeOH 90:10 (R_f material de start = în start, R_f monoacetali = 0.28-0.34, R_f diacetali = 0.62-0.72), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzire la 120 °C .

FC (conform cu Metoda 6): AcOEt:MeOH 90:10

Metoda 8: (HBF_4)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 1.0 g (4.22×10^{-3} moli) N-acetil-N-metil-glucozamină (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70 °C) se adaugă 0.9 ml (1.5 eq, 6.33×10^{-3} moli) 1,1-dimetoxi ciclohexan și 7 ml CHCl_3 proaspăt distilat. Peste amestecul de reacție, în balonul scufundat în gheață se mai adaugă 0.1 ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (0.2 eq, 0.8×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare la 0 °C și se monitorizează prin TLC. După 2 h se oprește reacția prin adăugarea a 3 ml Et_3N în picături până la pH=8. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen.

TLC: AcOEt:MeOH 90:10 (R_f material de start = în start, R_f monoacetali = 0.28-0.34, R_f diacetali = 0.62-0.72), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzire la 120 °C .

FC (conform Metodei 6): AcOEt:MeOH 90:10

^1H -RMN, ^{13}C -RMN, MS:

Notă explicativă: Numărul de atomi de C și H din descrierea spectrelor ^{13}C -RMN și ^1H -RMN se referă doar la numărul de atomi de C și H dintr-un singur izomer (cis/trans) (sau la cel din amestecul de izomeri 2 și 3, după caz). În spectru, datorită izomerilor cis/trans, numărul semnalelor este dublu. Spoturile 1-5 sunt cele reprezentate în **Figura 3-14**

Spotul 1 ($C_{21}H_{35}NO_6$), (amestec al compușilor **2** și **3** din **Figura 3-31**):

2,3:5,6-di-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina (2) + 3,4:5,6-di-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina (3)

MS(EI), (24eV) ($C_{21}H_{35}NO_6$), $m/z=397$ ($M^{+\cdot}$) (diacetal. Izomerul **2** din **Figura 3-31**)

MS(EI), (24eV) ($C_{21}H_{35}NO_6$), $m/z=397$ ($M^{+\cdot}$) (diacetal. Izomerul **3** din **Figura 3-31**)

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$): δ_H

4.2-3.3 (16H, m, H_{1a} , H_{1b} , H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , H_{6a} , H_{6b} , din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

3.09, 3.06, 2.95, 2.93 (6H, 4s, $N-CH_3$, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

2.12, 2.05, 2.10, 2.07 (6H, 4s, $N-COCH_3$, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

1.34-1.55 (40H, m, $2 \times (CH_2)_5$, din izomerii 2+3, (*cis*, *trans*))

semnale neatribuite: (2H, C(2)-OH (din izomerul 2), C(4)-OH (din izomerul 3))

^{13}C -RMN (75MHz, $CDCl_3$) δ_H :

172.11, 171.16, 171.10, 170.99 (2C, $N-COCH_3$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

110.33, 110.26, 110.20, 110.03, 109.67, 109.56 (4C, $2 \times OCH_2$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

80.87, 79.10, 78.21 (2C, C_5 , (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

77.76, 77.09, 76.78, 76.71, 76.20, 75.96, 75.77, 75.16, (6C, C_2 , C_3 , C_4 , (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

67.61, 67.45, 66.70, 66.07, (2C, C_6 , (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

54.00, 52.78, 52.25, 48.74 (2C, C_1 , (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

37.81, 37.59, 34.47, 33.79 (2C, CH_3-N , (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

36.87, 36.79, 36.67, 36.43, 36.26, 36.15, 34.72, 34.61, 25.06, 24.97, 24.85, 23.92, 23.79, 23.72, 23.64 (20C, $2 \times (CH_2)_5$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

21.77, 21.67, 21.60, 21.34 (2C, $N-COCH_3$, (izomerii 2+3), (*cis*, *trans*))

Spotul 2 ($C_{21}H_{35}NO_6$), (compusul **4a** din **Figura 3-31**): *2,3:4,6-di-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina*

MS(EI), (22eV) ($C_{21}H_{35}NO_6$), $m/z=397$ ($M^{+\cdot}$)

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$) δ_H :

4.39-3.24 (8H, m, H_{1a} , H_{1b} , H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , H_{6a} , H_{6b} (*cis*, *trans*)),

3.16, 3.00 (3H, 2s, N-CH₃, (*cis*, *trans*))

2.15, 2.10 (3H, 2s, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

1.38-1.63 (20H, m, 2xO,OC(CH₂)₅, (*cis*, *trans*))

semnal neatribuit: (1H, C(5)-OH, (*cis*, *trans*))

¹³C-RMN (75MHz, CDCl₃) δ_H:

171.65, 171.14 (1C, N-COCH₃, (*cis*, *trans*)),

110.62, 109.80 (1C, O,OC(CH₂)₅, C din ciclul dioxolanic, (*cis*, *trans*)),

98.89, 98.51 (1C, O,OC(CH₂)₅, C din ciclul dioxanic, (*cis*, *trans*)),

78.17, 77.35, 75.77, 75.33, 72.86, 70.62, 63.36, 63.20 (4C, C₂, C₃, C₄, C₅, (*cis*, *trans*)),

63.75, 63.11 (1C, C₆, (*cis*, *trans*)),

53.99, 50.06 (1C, C₁, (*cis*, *trans*)),

37.95, 34.64 (1C, N-CH₃, (*cis*, *trans*)),

37.21, 37.09, 36.74, 36.62, 35.91, 35.72, 34.59, 28.01, 27.72, 25.56, 25.40, 25.07, 24.86, 23.94, 23.76, 23.71, 22.80, 22.73, 22.55, 22.46 (10C, 2x(CH₂)₅, (*cis*, *trans*)),

21.61, 21.54 (1C, N-COCH₃, (*cis*, *trans*)).

Spotul 3, (C₂₁H₃₅NO₆): Amestec de derivați di-O-ciclohexilidenici, posibil izomeri de rearanjare

MS(EI), (22eV), (C₂₁H₃₅NO₆), m/z=397(M⁺)

Spotul 4, (C₁₅H₂₇NO₆), (compusul **1** din **Figura 3-31**): 5,6-O-ciclohexiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (24eV) (caracterizat ca derivat triacetilat, C₂₁H₃₃NO₉), m/z=443, (M⁺)

¹H-RMN (300MHz, CDCl₃) δ_H:

4.15-3.93 (3H, m, H₅, H_{6a}, H_{6b}, (*cis*, *trans*)),

3.72-3.48 (5H, m, H_{1a}, H_{1b}, H₂, H₃, H₄, (*cis*, *trans*)),

3.09, 2.95 (3H, 2s, N-CH₃, (*cis*, *trans*)),

2.26, 2.11 (3H, 2s, N-COCH₃, (*cis*, *trans*)),

1.58-1.39 (10H, masiv, O,OC(CH₂)₅, (*cis*, *trans*))

semnale neatribuite: (3H, C(2)-OH, C(3)-OH, C(4)-OH, (*cis*, *trans*))

¹³C-RMN (75MHz, CDCl₃) δ_H:

(trans):

173.37 (1C, N-COCH₃), 109.71 (1C, O,OC(CH₂)₅), 75.04, 74.29, 72.93, 70.04 (4C, C2, C3, C4, C5), 66.70 (1C, C6), 52.15 (1C, C1), 38.22 (1C, N-CH₃), 36.47, 34.72, 25.1, 24.03, 23.75 (5C, O,OC(CH₂)₅), 21.86 (1C, N-COCH₃);

(*cis*):

172.39 (1C, N-COCH₃), 110.00 (1C, O,OC(CH₂)₅), 75.10, 74.66, 71.17, 69.81 (4C, C2, C3, C4, C5), 66.48 (1C, C6), 53.82 (1C, C1), 38.23 (1C, N-CH₃), 34.65, 33.97, 23.75 (5C, O,OC(CH₂)₅), 21.53 (1C, N-COCH₃)

Obținerea Izopropiliden Acetalilor NANMG

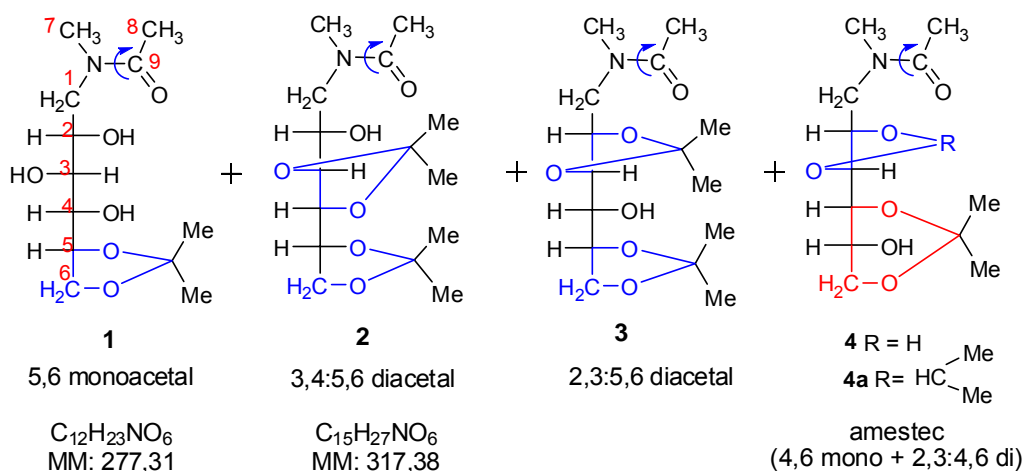


Figura 3-32. mono- și di-izopropiliden acetali (reacția din **Figura 3-11**)

Mod de lucru:

Metoda 1: Obținere Izopropiliden Acetali (APTS)

La 0.77 g (3.27×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină dizolvate în 6.5 ml DMF se adaugă în picături 0.28 ml (1.3 eq, 4.5×10^{-3} moli) 2,2-dimetoxipropan iar apoi sub agitare o cantitate catalitică (0.037 g) de APTS. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la temperatura camerei sub atmosferă de N₂. După 24 ore la r.t. controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) încă mai indică o prezență semnificativă a materiei prime. Se adaugă în balon aproximativ. 10 ml soluție saturată de NaHCO₃ și se extrage apoi repetat cu DCM. Faza organică se usucă pe CaCl₂, se filtrează și se concentrează la rotavapor. Reziduul obținut urmează a fi supus purificării prin FC (AcOEt.).

TLC: AcOEt:MeOH = 90:10, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de (NH₄)₂Mo₂O₇/ Ce(SO₄)₂ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: AcOEt

Metoda 2: Obținere Izopropiliden Acetali (APTS)

La 0.77 g (3.27×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină dizolvate în 13 ml DMF se adaugă în picături 0.21 (1.3 eq, 4.5×10^{-3} moli) 2-metoxipropena iar apoi sub agitare o cantitate catalitică (0.02 g) de APTS. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la temperatura camerei sub atmosferă de N_2 . După 48 ore controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) încă mai indică o prezență semnificativă a materiei prime. Se oprește reacția prin adăugarea de 1-2 picături de TEA, se concentrează amestecul la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC (AcOEt.).

TLC: AcOEt:MeOH = 95:5, vizualizare prin developare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7$ / $Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: AcOEt și AcOEt:MeOH = 95:5

Metoda 3: Obținere Izopropiliden Acetali (ACS)

La 2 g (8.4×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină dizolvate în 11 ml DMF de pe sită moleculară se adaugă un vârful spatulei de ACS (1 eq, ~ 0.100 g, 0.5×10^{-3} moli). Apoi în balonul scufundat în amestec de răcire (gheață+sare) și aflat sub pernă de N_2 se adaugă în picături 1 ml (1.4 eq, 11.6×10^{-3} moli) 2-metoxipropenă.

Se lasă amestecul de reacție sub agitare la 0 °C sub atmosferă de N_2 până a 2-a zi. După aproximativ 48 ore de agitare la 0 °C controlul CSS (AcOEt:MeOH=95:5) încă indică prezența materialului de start. Reacția se oprește prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen, AcOEt și $CHCl_3$.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin developare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7$ / $Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: conform FC de la Metoda 4

Metoda 4: Obținere Izopropiliden Acetali (ACS)

La 2.0 g (8.0×10^{-3} moli) de N-acetil-N-metil-glucamină solubilizate în 5 ml DMF de pe sită moleculară, se adaugă o cantitate catalitică de ACS. Apoi în balonul aflat sub pernă de N_2 la 0 °C, se adaugă în picături 1.5 ml (2 eq, 16.4×10^{-3} moli) 2-metoxipropenă. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la 0 °C sub atmosferă de N_2 până a 2-a zi și se monitorizează prin CSS. După 72 ore de agitare sub N_2 la 0 °C se oprește reacția (TLC a indicat consumarea materialului de start) prin adăugarea de 0.5 ml TEA, apoi se diluează amestecul de reacție cu toluen și se concentrează la rotavapor, reziduul obținut urmând a fi supus purificării prin FC. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen și AcOEt.

TLC (1): AcOEt:MeOH=90:10, vizualizare prin developare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7$ / $Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței la 120 °C.

R_f (glucamina) = este în start, R_f (monoacetali) = 0.58 (spotul 1 de sus), 0.52 (spotul 2 de sus), 0.45 (spotul 3 de sus), R_f (diacetali) = 0.15.

TLC (2) (pentru vizualizare diacetali): AcOEt:MeOH = 70:30, R_f (diacetal) = 0.60 (spotul 4 de sus în jos), 0.50 (spotul 5 de sus în jos)

Tabel 3-12. Condițiile de purificare ale amestecurilor de reacție prin FC

nr. FC	FC	Separare compuși (vezi TLC în Figura 3-12)	Treceri coloană
FC 1 gradient	AcOEt:Tol 75:25,	pt. separarea și colectarea spoturilor 1, 2, 3 din amestecul celor 4 spoturi	2
	AcOEt:MeOH 90:10	pt. eluarea mai rapidă a spoturilor 3, 4 de jos	
FC 2	Tol:EtOH 90:10	pentru separarea spoturilor 1, 2 și 3 de sus din amestecul cu cele 3 spoturi de sus	7
FC 3	Tol:EtOH 97:3	Purificare izomer 1 de sus (spotul 1)	2
FC 4	Tol:EtOH 97:3	Purificare izomer 2 de sus (spotul 2)	1
FC 5	Tol:MeOH 80:20	Purificare izomeri de jos (spoturile 3 și 4)	5

FC 1: FC¹. AcOEt:Tol 75:25 (pentru separarea și colectarea izomerilor de sus de cei de jos), FC². AcOEt:MeOH 90:10 (se mărește polaritatea pentru a grăbi colectarea spoturilor de jos).

FC 2: se culeg separat spoturile 1, 2, 3 însă urmează a mai fi purificați printr-o altă trecere prin coloană

FC 3: (pentru purificarea spotului 1 de sus) Tol:EtOH 97:3 ($R_f=0.20$) și **FC 4:** (pentru purificarea spotului 2 de sus) Tol:EtOH 97:3 – solvenți cu polaritate mai scăzută pentru a întârzia apariția compusului, rezultând astfel o mai bună separare.

Metoda 5: Obținere Izopropiliden Acetali (HBF_4)

Într-un balon cu agitator magnetic ce conține 2.0 g (8.44×10^{-3} moli) N-acetil-N-metil-glucosamină se adaugă 6 ml CHCl_3 (proaspăt distilat) și 1.2 ml (1.5 eq, 12.66×10^{-3} moli) 2-metoxi propenă. Apoi peste amestecul de reacție în balonul scufundat în gheață se mai adaugă 0.1 ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (0.1 eq, 0.84×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare la 0 °C și se monitorizează prin TLC. După 2 h se oprește reacția prin adăugarea de Et_3N în picături până la pH=8. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Se recuperează glucamina nereacționată prin filtrare.

TLC: AcOEt:MeOH 70:30 (R_f starting material = 0.18, R_f monoacetali = 0.5, R_f diacetali = 0.68), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzire la 120 °C .

¹H-RMN, ¹³C-RMN, MS:

Notă explicativă: Numărul de atomi de C și H din descrierea spectrelor **¹³C-RMN** și **¹H-RMN** se referă doar la numărul de atomi de C și H dintr-un singur izomer (cis/trans) (sau la cel din amestecul de izomeri 2 și 3, după caz). În spectru,

datorită izomerilor *cis/trans* numărul semnalelor este dublu. Spoturile 1-4 sunt cele reprezentate în **Figura 3-12**

Spotul 1 ($C_{15}H_{27}NO_6$), (amestec al compuşilor **2** şi **3** din **Figura 3-32**):

2,3:5,6-di-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina (**2**) + *3,4:5,6-di-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina* (**3**)

MS(EI), (22eV), (caracterizat ca derivat monoacetilat $C_{17}H_{29}NO_7$) $m/z = 344(M-CH_3)$

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$): δ_H

4.33-3.33 (16H, m, H_{1a} , H_{1b} , H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , H_{6a} , H_{6b} , din izomerii 2+3, (*cis, trans*)),

3.13, 3.10, 2.98, 2.96 (6H, 4s, $N-CH_3$, din izomerii 2+3, (*cis, trans*)),

2.15, 2.14, 2.10, 2.09 (6H, 4s, $N-COCH_3$, din izomerii 2+3, (*cis, trans*)),

1.43, 1.42, 1.40, 1.37, 1.34, 1.33, 1.32(24H, 7s, $2xC(CH_3)_2$, din izomerii 2+3, (*cis, trans*))

semnale neatribuite: (2H, C(2)-OH (din izomerul 2), C(4)-OH (din izomerul 3))

^{13}C -RMN (75MHz, $CDCl_3$): δ_H :

172.27, 171.28 (1C, $N-COCH_3$, (izomerul 2 sau 3), (*cis, trans*))

171.16, 170.69 (1C, $N-COCH_3$, (izomerul 2 sau 3), (*cis, trans*))

109.82, 109.73, 109.63, 109.56, 109.32, 109.22 (4C, $2xO, OC(CH_3)_2$, (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

81.26, 79.75, 79.06, 78.33, 77.64, 77.42, 77.21, 77.11, 77.07, 76.79, 75.41, 71.25, 69.76, 68.92, 67.31 (8C, C_2, C_3, C_4, C_5 , (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

67.89, 67.74, 67.40, 66.84, 65.52 (2C, C_6 , (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

54.16, 52.96, 52.32, 49.02 (2C, C_1 , (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

37.93, 37.71, 34.39, 33.84 (2C, $N-CH_3$, (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

27.34, 27.27, 27.21, 26.79, 26.72, 26.65, 25.32, 25.26, (8C, $2xC(CH_3)_2$, (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

21.83, 21.71, 21.64, 21.42 (2C, $N-COCH_3$, (izomerii 2 + 3), (*cis, trans*))

Spotul 2 ($C_{15}H_{27}NO_6$), (compusul **4a** din **Figura 3-32**):

2,3:4,6-di-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (22eV), (caracterizat ca derivat monoacetilat $C_{17}H_{29}NO_7$) $m/z = 344(M-CH_3)$

1H -RMN (300MHz, $CDCl_3$): δ_H

4.11-3.35 (8H, m, H_{1a} , H_{1b} , H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , H_{6a} , H_{6b} , (*cis, trans*))

3.15, 3.09 (3H, 2s, $N-CH_3$, (*cis, trans*))

2.15, 2.11 (3H, 2s, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

1.49, 1.42, 1.41, 1.40, 1.39, 1.35 (12H, 8s, 2xO,OC(CH₃)₂, (*cis*, *trans*))

semnal neatribuit: (1H, s, OH, (*cis*, *trans*))

¹³C-RMN (75MHz, CDCl₃) δ_H:

171.72, 171.63 (1C, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

109.39, 109.11 (1C, O,OC(CH₃)₂ din ciclul dioxolanic, (*cis*, *trans*))

99.67, 99.17 (1C, O,OC(CH₃)₂, din ciclul dioxanic, (*cis*, *trans*))

79.00, 76.19, 74.21, 73.89, 73.56, 70.47 (3C, C₂, C₃, C₄, (*cis*, *trans*))

66.95, 65.46 (1C, C₆, (*cis*, *trans*))

63.29, 62.71 (1C, C₅, (*cis*, *trans*))

50.46, 49.41 (1C, C₁, (*cis*, *trans*))

38.36, 37.93 (1C, N-CH₃, (*cis*, *trans*))

28.11, 27.19, 27.09, 26.86, 26.81, 26.55, 25.14, 25.00 (4C, 2xC(CH₃)₂, (*cis*, *trans*))

19.57, 19.30 (1C, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

Spotul 3 (C₁₂H₂₃NO₆), (compusul **1** din **Figura 3-32**):

5,6-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (24eV), (caracterizat ca derivat triacetilat, C₁₈H₂₉NO₉) m/z= 388(M-CH₃)

¹H-RMN (300MHz, CDCl₃): δ_H

4.04-3.35 (8H, m, H_{1a}, H_{1b}, H₂, H₃, H₄, H₅, H_{6a}, H_{6b}, (*cis*, *trans*))

2.99, 2.82 (3H, 2s, N-CH₃, (*cis*, *trans*))

2.03, 1.99 (3H, 2s, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

1.28, 1.27, 1.23, 1.22 (6H, 4s, O,OC(CH₃)₂, (*cis*, *trans*))

semnale neatribuite: (3H, 3s, C₂-OH, C₃-OH, C₄-OH, (*cis*, *trans*))

¹³C-RMN (75MHz, CDCl₃) δ_H:

(trans):

172.73 (1C, N-COCH₃),

109.03 (1C, O,OC(CH₃)₂),

76.84, 75.34 73.87, 70.09 (4C, C₂, C₃, C₄, C₅),

66.88 (1C, C₆),

51.40 (1C, C₁),

38.07 (1C, N-CH₃),

26.71, (2C, O,OC(CH₃)₂),

21.70 (1C, N-COCH₃)

(cis)

172.34 (1C, NCOCH₃),

109.12, (1C, O,OC(CH₃)₂),

75.60, 74.13, 72.06, 70.99 (4C, C₂, C₃, C₄, C₅),

66.97 (1C, C₆),

53.65 (1C, C₁),

33.91 (1C, N-CH₃),

25.26 (2C, O,OC(CH₃)₂),

21.51 (1C, N-COCH₃)

Spotul 4 (C₁₂H₂₃NO₆), (compusul **4** din **Figura 3-32**):

4,6-O-izopropiliden-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (19eV), (caracterizat ca derivat triacetilat C₁₈H₂₉NO₉) m/z= 388(M-CH₃)

¹H-RMN (300MHz, CDCl₃): δ_H

4.14-3.52 (8H, m, H_{1a}, H_{1b}, H₂, H₃, H₄, H₅, H_{6a}, H_{6b}, (*cis*, *trans*))

3.10, 3.09 (3H, 2s, N-CH₃, (*cis*, *trans*))

2.13, 2.11 (3H, 2s, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

1.42, 1.40, 1.35, 1.25 (6H, 4s, O,OC(CH₃)₂, (*cis*, *trans*))

semnale neatribuite: (3H, 3s, C₂-OH, C₃-OH, C₅-OH, (*cis*, *trans*))

¹³C-RMN (75MHz, CDCl₃) δ_H:

173.48, 172.21 (1C, N-COCH₃),

99.20, 99.10 (1C, O,OC(CH₃)₂, (*cis*, *trans*))

77.59 - 62.54, semnale multiple (4C, C₂, C₃, C₄, C₅, (*cis*, *trans*))

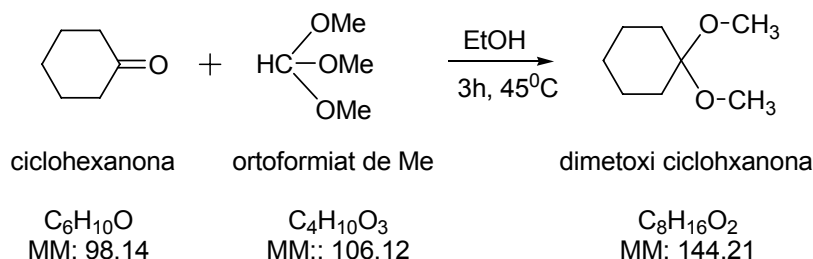
67.08, 63.83 (1C, C₆, (*cis*, *trans*))

52.41, 49.22 (1C, C₁, (*cis*, *trans*))

38.25, 38.20 (1C, N-CH₃, (*cis*, *trans*))

29.69, 29.56, 29.49, (2C, O,OC(CH₃)₂, (*cis*, *trans*))

19.25, 18.92 (1C, N-COCH₃, (*cis*, *trans*))

Sinteza dimetoxi-ciclohexanonei:**Figura 3-33.** Sinteza dimetoxi ciclohexanonei

În reacția în care se lucrează cu ETOH (Metoda 1) se obține amestec de diMe, diEt și Me-Et acetali. Pentru evitarea formării Et-acetalilor s-a lucrat apoi doar cu MeOH (Metoda 2). *Fracțiunile se culeg prin distilare: 62-76 °C [Me-Et acetal], 77-82°C [di-Et acetal], 82-83°C [di-Me acetal].*

Mod de Lucru [47]:**Metoda 1A:**

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se introduc 10 ml (0.1 moli) ciclohexanonă, 13 ml (1.2 eq, 0.12 moli) ortoformiat de metil, 2 g Montmorilonit KSF și 11.5 ml EtOH (2 eq, 0.2 moli). Amestecul de reacție se încălzește și se lasă sub agitare 3 ore la temperatura de 45-47 °C. Apoi catalizatorul se elimină din amestecul de reacție prin filtrare pe pâlnie cu frită și celită. Filtratul obținut se distilă, produsul de reacție (dimetoxi ciclohexanona) culegându-se ca fracția de la 82-84 °C.

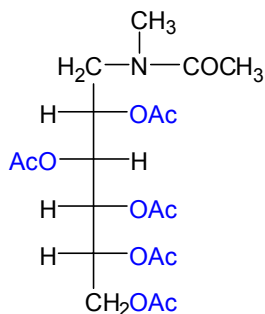
Deoarece s-a lucrat cu EtOH, se obține amestec de: diMe, diEt și Me-Et acetali. Fracțiunile culese la distilare au fost la 62-76 °C, 77-82 °C, 82-83 °C, fiind apoi analizate prin GC: 62-76 °C [97.9% MeOH + 2.2% ciclohexanonă]; 77-82 °C [97.3% ortoformiat de Me + 2.7% ciclohexanonă]; 82-83 °C [94.0% ortoformiat de Me + 6.0% ciclohexanonă]

Metoda 1B:

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se introduc 10 ml (0.1 moli) ciclohexanonă, 13 ml (1.2 eq, 0.12 moli) ortoformiat de metil, 2 g Montmorilonit KSF și 8 ml MeOH (2 eq, 0.2 moli). Amestecul de reacție se încălzește și se lasă sub agitare 3 ore la temperatura de 45-47 °C. Apoi catalizatorul se elimină din amestecul de reacție prin filtrare pe pâlnie cu frită și celită. Filtratul obținut se distilă, fracțiunile ce se culeg prin distilare fiind la 62-76 °C, 77-82 °C și 82-90 °C. Produsul de reacție (dimetoxi ciclohexanona) este fracția de la 82-90 °C.

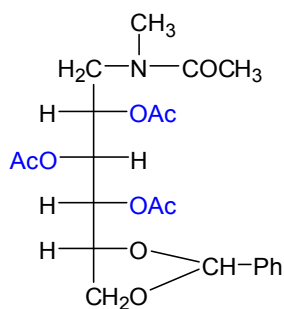
Obs.: - în condițiile de reacție cu MeOH se obține amestec de Me și diMe-acetali.

- fracțiile de distilare au fost analizate prin GC: 62-76 °C [99.9% MeOH + 0.1% Me-monoacetal], 77-82 °C [4.6% Me-monoacetal]

Obținerea N-metil-N-acetil-glucozaminei acetilate: [C₁₇H₂₇NO₁₀]**Figura 3-34.****Mod de lucru:** (*Acetilare N-metil-N-acetil-glucozamină*)

La 0.23 g (1×10^{-3} moli) de N-metil-N-acetil-glucamină dizolvați în 10 ml piridină (Pyr) se adaugă o cantitate catalitică de 4-DMAP. Apoi în balonul scufundat în gheață și aflat sub atmosferă de N₂ se adaugă 2.0 ml (20 eq, 20×10^{-3} moli) anhidridă acetică. După aproximativ 5 min. se scoate balonul din gheață și se lasă sub agitare la r.t. aproximativ 2 h până ce controlul TLC indică dispariția materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea de MeOH (abs). Se concentrează apoi amestecul de reacție la rotavapor. Piridina se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Se obține un sirop din care produsul de reacție urmează a fi separat și purificat prin FC.

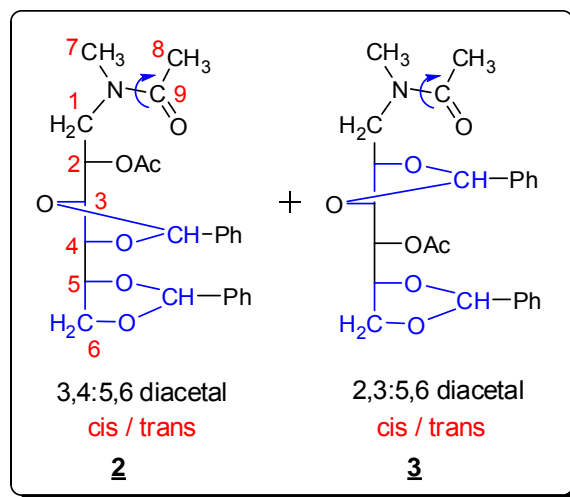
TLC: AcOEt, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de (NH₄)₂Mo₂O₇/ Ce(SO₄)₂ urmată de încălzirea plăcuței.

Obținerea 5,6-benziliden-monoacetalului triacetilat [C₂₂H₂₉NO₉]:**Figura 3-35.**

Mod de lucru: (Acetilare benziliden-monoacetal)

La 0.15×10^{-3} moli de monobenziliden acetal de glucamina dizolvați în 1 ml Pyr se adaugă o cantitate catalitică de 4-DMAP. Apoi în balonul scufundat în gheață și aflat sub atmosfera de N_2 se adaugă 0.5 ml (3.5 eq, 0.5×10^{-3} moli) anhidridă acetică. După aproximativ 5 min. se scoate balonul din gheață și se lasă sub agitare la r.t. aproximativ 2 h până ce controlul TLC indică dispariția materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 1 ml MeOH (abs). Se concentrează apoi amestecul de reacție la rotavapor. Piridina se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Se obține un sirop din care produsul de reacție urmează a fi separat și purificat prin FC.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7/Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

Obținerea benziliden-diacetalilor monoacetilați: $[C_{25}H_{29}NO_7]$ **Figura 3-36.****Mod de lucru:** (Acetilare benziliden-diacetali)

La 0.024 g (0.06×10^{-3} moli) de diacetal de glucamină dizolvați în 1 ml Pyr se adaugă o cantitate catalitică de 4-DMAP. Apoi în balonul scufundat în gheață și aflat sub atmosferă de N_2 se adaugă 0.5 ml (3.5 eq, 0.5×10^{-3} moli) anhidridă acetică. După aproximativ 5 min. se scoate balonul din gheață și se lasă sub agitare la r.t. aproximativ 2 h până ce controlul TLC indică dispariția materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 1 ml MeOH (abs). Se concentrează apoi amestecul de reacție la rotavapor. Piridina se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Se obține un sirop din care produsul de reacție urmează a fi separat și purificat prin FC.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7/Ce(SO_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: AcOEt:Tol 80:20

^1H -RMN, ^{13}C -RMN, MS:

Notă explicativă: Numărul de atomi de C și H din descrierea spectrului ^{13}C -RMN și ^1H -RMN se referă doar la nr. de atomi de C și H dintr-un singur izomer (*cis/trans*) (sau la cel din amestecul de izomeri 2 și 3, după caz). În spectru, datorită izomerilor *cis/trans*, numărul semnalelor este dublu.

Spotul 1 acetilat ($\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{NO}_7$), (diacetali monoacetilați; amestec al compușilor 2 și 3 Figura 3-36): 2,3:5,6- di-O-benziliden- (4-O-acetil)- N-acetil-N-metil-glucozamina (2) + 3,4:5,6- di-O-benziliden- (2-O-acetil)- N-acetil-N-metil-glucozamina (3)

MS(EI), 22eV, ($\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{NO}_7$) $m/z = 455(\text{M}^+)$

^1H -RMN (300MHz, CDCl_3): δ_{H}

7.33-7.44 (20H, m, $\underline{5xCH}$ din Ph1, $\underline{5xCH}$ din Ph2, din izomerii 2+3, (*cis, trans*)),

5.95, 5.93 (4H, 4s, O- \underline{CH} -Ph1 și O- \underline{CH} -Ph2, din izomerii 2+3, (*cis, trans*))

4.31-3.24 (12H, m, $\underline{H2}$, $\underline{H3}$, $\underline{H4}$, $\underline{H5}$, C(6) $\underline{H2}$, din izomerii 2+3, (*cis, trans*))

2.98-2.78 (10H, m, N- $\underline{CH3}$, N-C(1) $\underline{H2}$ -C2, din izomerii 2+3, (*cis, trans*))

2.16-1.99 (12H, m, N-C=O- $\underline{CH3}$ din izomerii 2+3, C(2)-O-C=O- $\underline{CH3}$ din izomerul 2 și C(4)-O-C=O- $\underline{CH3}$ din izomerul 3, (*cis, trans*))

^{13}C -RMN (75MHz, CDCl_3)

171.25, 171.19, 170.82, 170.40, 169.96, 169.64, 169.52 (4C, N- $\underline{C=O}$, O- $\underline{C=O}$ (*cis, trans*), (izomerii 2+3))

137.34, 136.80 (4C, 2x \underline{C} din Ph, (*cis, trans*), izomerii 2+3))

129.71, 129.66, 129.38, 129.28, 129.07, 128.34, 128.29, 128.20, 126.30, 126.21, 126.16, 126.09, (20C, 10x \underline{CH} din Ph, (*cis, trans*), izomerii 2+3))

104.20, 104.01, 103.90, 103.74, (4C, 2x \underline{CH} -Ph, (*cis, trans*), izomerii 2+3)),

77.42, 76.99, 76.57, 74.98, 74.37, 74.24, 70.33, 70.28, 70.20, 70.06, 69.88, 68.09, 68.03, (8C, $\underline{C2}$, $\underline{C3}$, $\underline{C4}$, $\underline{C5}$, (*cis, trans*), izomerii 2+3))

67.37, 67.25, 67.10, 66.59, (2C, $\underline{C6}$, (*cis, trans*), izomerii 2+3))

50.77, 50.45, 47.57 (2C, $\underline{C1}$, (*cis, trans*), izomerii 2+3))

37.19, 37.07, 33.52, 33.41, (2C, $\underline{CH3}$ -N, (*cis, trans*), izomerii 2+3))

21.54, 21.50, 21.10, 20.75, 20.71, 20.67, 20.58, 20.53, 20.45, 20.38, (4C, $\underline{CH3}$ -COO, $\underline{CH3}$ -CON (*cis, trans*) izomerii 2+3))

Obținerea 5,6-ciclohexiliden-monoacetalului triacetilat: [C₂₁H₃₃NO₉]

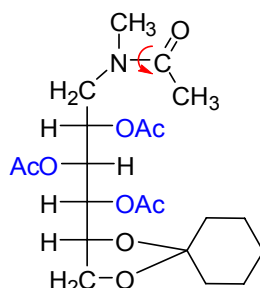


Figura 3-37. *trans/cis=2.4/1*

Tabel 3-13.

nr. crt.	Raport molar (monoacetal: anhidridă)	catalizator	solvent	temperatură
1	1 : 20	4-DMAP	Pyr	5h, r.t., N ₂

Mod de lucru: (*acetilare ciclohexiliden-monoacetal*) conform procedurii generale

CSS: AcOEt:Tol 90:10

¹H-RMN, ¹³C-RMN, MS:

Spotul 4 triacetilat (C₂₁H₃₃NO₉): *5,6-O-ciclohexiliden-(2,3,4-tri-O-acetil)-N-acetil-N-metil-glucozamina* (**Figura 3-37**)

MS(EI), (24eV) (C₂₁H₃₃NO₉), m/z=443 (M⁺)

¹H-RMN (300MHz, CDCl₃): δ_H (*cis:trans* = 1:2.4 - din singletul de la 2.99 și 2.86)

(*trans*):

5.36-5.24 (3H, m, H2, H3, H4),

4.13 (1H, dt, H5, J_{5,4}=12.6Hz, J_{5,6a}=J_{5,6b}=6.2Hz),

3.95 (1H, dd, H6a, J_{6a,6b}=8.4Hz, J_{6a,5}=6.2Hz),

3.83 (1H, dd, H6b, J_{6b,6a}=8.4Hz, J_{6b,5}=6.2Hz),

3.60-3.55 (2H, m, H1a, H1b),

2.99 (3H, s, N-CH₃),

2.14, 2.11, 2.05, 2.03 (12H, 4s, 1xN-COCH₃, 3xO-COCH₃),

1.59-1.37 (10H, masiv, (CH₂)₅)

^{13}C -RMN (75MHz, CDCl_3) δ_{H} :

(trans):

171.09 (1C, N- COCH_3)

170.02, 169.93, 169.56 (3C, 3xO- COCH_3),

110.23 (1C, O, $\text{OC}(\text{CH}_2)_5$),

74.07 (1C, C_5),

70.53, 70.32, 69.93 (3C, C_2 , C_3 , C_4),

65.52 (1C, C_6),

47.59 (1C, C_1),

37.09 (1C, N- CH_3),

35.92, 34.62, 24.90, 23.70, 23.55 (5C, $(\text{CH}_2)_5$),

21.54, 20.76, 20.71, 20.54 (4C, 1xN- COCH_3 + 3xO- COCH_3);

(cis):

170.75 (1C, N- COCH_3)

170.73, 169.47, 169.36 (3C, 3xO- COCH_3),

110.35 (1C, O, $\text{OC}(\text{CH}_2)_5$),

73.75 (1C, C_5),

70.65, 70.24, 68.50 (3C, C_2 , C_3 , C_4),

65.63 (1C, C_6),

50.63 (1C, C_1),

33.52 (1C, N- CH_3),

36.10, 34.49, 24.85, 23.70, 23.55, (5C, $(\text{CH}_2)_5$),

21.17, 20.62, 20.48, 20.42 (4C, 1xN- COCH_3 + 3xO- COCH_3).

Spotul 5 triacetilat ($\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{NO}_9$): 4,6-O-ciclohexiliden-(2,3,5-tri-O-acetil)-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (24eV), $m/z=443$, ($\text{M}^{+\cdot}$)

Obținerea ciclohexiliden-diacetalilor monoacetilați [C₂₃H₃₇NO₇]:

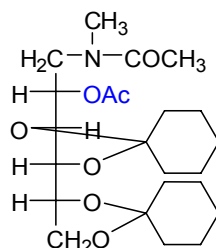


Figura 3-38.

Tabel 3-14.

nr. crt.	Raport molar (diacetal: anhidridă)	catalizator	solvent	temperatură
1	1 : 20	4-DMAP	Pyr	5h, r.t., N ₂

Mod de lucru: (acetilare ciclohexiliden-diacetal) conform procedurii generale

CSS: AcOEt

FC: Tol:Eter de Petrol 75:25

Obținerea 5,6-izopropiliden monoacetalului triacetilat [C₁₈H₂₉NO₉]:

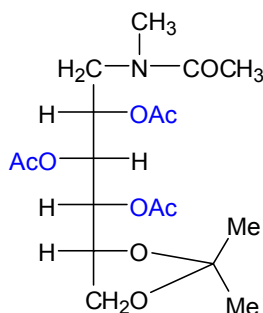


Figura 3-39.

Mod de lucru: (Acetilare izopropiliden-monoacetal)

La 0.200 g (0.7×10^{-3} moli) de 4,5 mono-izopropiliden acetal de glucamină dizolvat în 2 ml piridină se adaugă o cantitate catalitică de 4-DMAP. Apoi în balonul scufundat în gheață și aflat sub atmosfera de N₂ se adaugă 2.5 ml (3.5 eq, 2.5×10^{-3} moli) anhidridă acetică. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la 0 °C aproximativ 2 h până ce controlul TLC indică dispariția materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 1.5 ml MeOH (abs). Se concentrează apoi

amestecul de reacție la rotavapor. Piridina se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Se obține un sirop roșu-brun din care produsul de reacție urmează a fi separat și purificat prin FC.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5 (R_f produs de reacție = 0.61 (2 spoturi), R_f material de start = 0.22), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

¹H-RMN, ¹³C-RMN, MS:

Spotul 3 triacetilat ($\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_9$), (Figura 3-39):

5,6-O-izopropiliden-(2,3,4-tri-O-acetil)-N-acetil-N-metil-glucozamina

MS(EI), (24eV), ($\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{NO}_9$) m/z = 388(M-CH₃)

¹H-RMN (300MHz, CDCl₃): δ_{H}

(trans):

5.35-5.17 (3H, m, H2, H3, H4),
 4.13 (1H, dt, H5, $J_{5,4}=12.3\text{Hz}$, $J_{5,6a}=J_{5,6b}=6.3\text{Hz}$),
 4.00 (1H, dd, H6a, $J_{6a,6b}=8.4\text{Hz}$, $J_{6a,5}=6.3\text{Hz}$),
 3.85 (1H, dd, H6b, $J_{6b,6a}=8.4\text{Hz}$, $J_{6b,5}=6.3\text{Hz}$),
 3.57 (2H, m, H1a, H1b),
 2.93, 2.80 (3H, 2s, N-CH₃),
 2.13, 2.10, 2.04, 2.02 (12H, 4s, N-COCH₃, 3xO-COCH₃),
 1.31, 1.25 (6H, 2s, O,OC(CH₃)₂)

(cis):

5.33-5.07 (3H, m, H2, H3, H4),
 4.16-4.10 (1H, dt, H5),
 3.99-3.92 (1H, dd, H6a),
 3.85-3.76 (1H, dd, H6b),
 3.55, 3.54 (2H, m, H1a, H1b),
 2.80 (3H, 2s, N-CH₃),
 2.09, 2.06, 2.03, 1.98 (12H, 4s, N-COCH₃, 3xO-COCH₃),
 1.33, 1.26 (6H, 2s, O,OC(CH₃)₂)

¹³C-RMN (75MHz, CDCl₃) δ_{H} :

(trans)

171.13, 169.98, 169.90, 169.61 (4C, 1xN-COCH₃, 3xO-COCH₃),
 109.43, (1C, O,OC(CH₃)₂),

aproximativ 1 h până ce controlul TLC indica dispariția materialului de start. Se oprește reacția prin adăugarea a 1 ml MeOH (abs). Se concentrează apoi amestecul de reacție la rotavapor. Piridina se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Amestecul de reacție obținut urmează a fi separat și purificat prin FC.

TLC: AcOEt:MeOH=95:5, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ urmată de încălzirea plăcuței.

FC: AcOEt:Tol 80:20

Obținerea NMG prin N-deacetilarea N-acetil-N-metil-glucozaminei

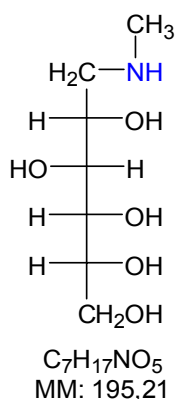


Figura 3-41.

Metoda 1 (cu $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$): - conform procedurii din literatură [46]

TLC: AcOEt:MeOH 1:1, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

R_f (glucozamină) = este în start, R_f (monoacetal) = 0.33, R_f (diacetal) = 0.64

Metoda 2 (cu Na)

Într-un balon cu agitator magnetic se adaugă 0.120g (0.506×10^{-3} moli) glucamina, 3.5 ml n-butanol și o bucată de Na metalic. Amestecul de reacție se încălzește apoi 2 ore la refluxul butanolului (118°C) cu balonul scufundat într-o baie de glicerina. După 2h, controlul TLC (AcOEt:MeOH 45:55) indica dispariția glucaminei și apariția produsului de reacție la $R_f=0$.

TLC: AcOEt:MeOH 45:55, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) și apoi încălzire la 120°C

Deprotejarea diaceton glucozei și dicitlohexiliden glucozei cu $\text{H}_2\text{N-NH}_2$

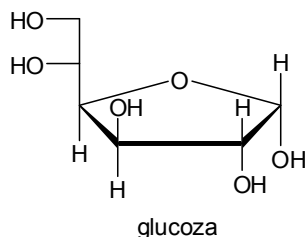


Figura 3-42.

Metoda 1: (deprotejarea diaceton glucozei cu $\text{H}_2\text{N-NH}_2$) - conform procedurii din literatură [46]

TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 73:23$, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

$R_f(\text{glucoza}) = 0.14$, $R_f(\text{monoacetonglucoză}) = 0.76$, $R_f(\text{diacetonglucoză}) =$ cu frontul

Metoda 2: (deprotejarea dicitlohexiliden glucozei cu $\text{H}_2\text{N-NH}_2$ [46]):

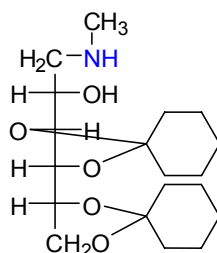
Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se adaugă 0.5g 1,2:5,6-di-O-ciclohexiliden- α -D-glucoza (1.47×10^{-3} moli) și 4ml (50eq, 73.5×10^{-3} moli) hidrazină. Amestecul de reacție se menține sub agitare la temperatura de 70°C și se monitorizează mersul reacției prin control TLC. După aproximativ 24de ore la 70°C controlul CSS încă arată că reacția nu a avut loc ceea ce demonstrează că hidrazina nu rupe legăturile acetalice.

TLC: $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 95:5$, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

$R_f(\text{glucoza-martor}) =$ este în start, $R_f(\text{monoacetal-martor}) = 0.12$, $R_f(\text{diacetal}) = 0.66$

Obs.: - hidrazina se evaporă prin antrenare repetată cu xilen

Obținerea NMG di-ciclohexiliden acetalilor



$\text{C}_{19}\text{H}_{33}\text{NO}_5$
MM: 355,47

Figura 3-43.

Metoda 1A (cu $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$): (cu dicitlohexiliden acetalul, spotul 1) **Figura 3-43**

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se adaugă 0.09g dicitlohexiliden acetal (0.23×10^{-3} moli) și 0.5ml (50eq, 11.6×10^{-3} moli) hidrazină. Pentru solubilizarea acetalului se mai adaugă și 1ml EtOH. Amestecul de reacție se menține sub agitare la temperatura de 70°C și se monitorizează prin TLC. După 24 de ore la 70°C controlul TLC arată că reacția nu a progresat astfel că s-a mai adăugat 1ml NH_2-NH_2 (100 eq) și s-a lăsat în continuare reacția sub agitare la 70°C . La 48 de ore de la pornirea reacției s-au mai adăugat 0.5 ml NH_2-NH_2 (50 eq). După 72h controlul TLC încă indică faptul că reacția nu a progresat semnificativ, ceea ce demonstrează că hidrazina nu rupe legăturile acetalice.

TLC: AcOEt:MeOH = 90:10, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

$R_f(\text{dicitlohexiliden acetal-martor}) = 0.65$, $R_f(\text{produs de reacție, 2 izomeri}) = 0.17$, 0.10

Metoda 1B (cu $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$) (cu dicitlohexiliden acetalul, spotul 2) **Figura 3-43.**

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se adaugă 0.03g dicitlohexiliden acetal (0.08×10^{-3} moli) și 0.2ml (50eq, 3.9×10^{-3} moli) hidrazină. Pentru solubilizarea acetalului se mai adaugă și 1ml EtOH. Amestecul de reacție se menține sub agitare la temperatura de 70°C și se monitorizează prin TLC. După 24 de ore la 70°C controlul TLC arată că reacția nu a progresat astfel că s-a mai adăugat 1ml NH_2-NH_2 (100 eq) și s-a lăsat în continuare reacția sub agitare la 70°C . La 48 de ore de la pornirea reacției s-au mai adăugat 0.5 ml NH_2-NH_2 (50 eq). După 72h controlul TLC încă indică faptul că reacția nu a progresat semnificativ ceea ce demonstrează că hidrazina nu rupe legăturile acetalice.

TLC: AcOEt:MeOH = 90:10, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

$R_f(\text{dicitlohexiliden acetal-martor}) = 0.56$, $R_f(\text{produs de reacție, 2 izomeri}) = 0.13$, 0.03

Metoda 1C (cu $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$): (cu dicitlohexiliden acetalul, spotul 1) **Figura 3-43.**

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se adaugă 0.08g dicitlohexiliden acetal (0.2×10^{-3} moli) și 2ml (200eq, 41×10^{-3} moli) hidrazină. Amestecul de reacție se menține sub agitare la temperatura de 70°C și se monitorizează prin TLC (AcOEt:MeOH = 90:10). După 72 de ore la 70°C controlul TLC încă arată că reacția nu a progresat astfel că s-a diluat amestecul de reacție cu Tol și apoi s-a adus la sec. Reziduul obținut s-a trecut apoi prin FC pentru recuperarea starting material.

TLC: AcOEt:MeOH = 90:10, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

$R_f(\text{diciclohexiliden acetal-martor}) = 0.56$, $R_f(\text{produs de reacție, 2 izomeri}) = 0.13$, 0.03

FC: pentru recuperarea starting material: Tol:AcOEt 50:50

Metoda 2 (cu Na) **Figura 3-43.**

Într-un balon cu agitator magnetic se adaugă 0.077g (0.20×10^{-3} moli) diciclohexiliden acetal, 2.0 ml n-butanol și o bucățică de Na metalic. Amestecul de reacție se încălzește apoi 2 ore la refluxul butanolului (118°C) cu balonul scufundat într-o baie de glicerina. După ce controlul TLC (AcOEt:MeOH 85:15) indica consumarea starting material se scufunda balonul într-un vas cu gheață și se adaugă sub agitare în picături ~3ml H_2O distilată. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor până la sec (butanolul se scoate cu toluen). Apoi se extrage repetat produsul de reacție cu CHCl_3 . Se tranzvăzează CHCl_3 într-un alt balon de reacție și se aduce la sec. Reziduul obținut se supune purificării prin FC (AcOEt:MeOH 85:15).

TLC: AcOEt:MeOH 85:15 ($R_f=0.3$ izomerul de sus, $R_f=0.13$ izomerul de jos), vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ [$21\text{g}(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7 + 1\text{g Ce}(\text{SO}_4)_2 + 31\text{ml H}_2\text{SO}_4 + 469\text{ml H}_2\text{O}$] urmată de încălzire la 120°C .

FC: AcOEt:MeOH 85:15

Încercări de sisteme pentru a putea distinge dacă sunt 2 izomeri ca produși de reacție și pentru ai diferenția:

CHCl_3 :MeOH 70:30, CHCl_3 :MeOH 80:20 (cei 2 izomeri sunt la același R_f)

CHCl_3 :AcOEt 50:50, CHCl_3 :AcOEt 30:70 (cei 2 izomeri sunt la același R_f)

Tol:MeOH 80:20 (cei 2 izomeri sunt la același R_f)

AcOEt : *n*-Propanol 65:35, AcOEt : *n*-Propanol 60:40, AcOEt : *n*-Propanol : H_2O 65:30:5, AcOEt : *n*-Propanol : H_2O 20:70:10 (cei 2 izomeri nu se pot clar diferenția)

Butanol:Acetona: H_2O 40:50:10 (cei 2 izomeri nu se pot clar diferenția)

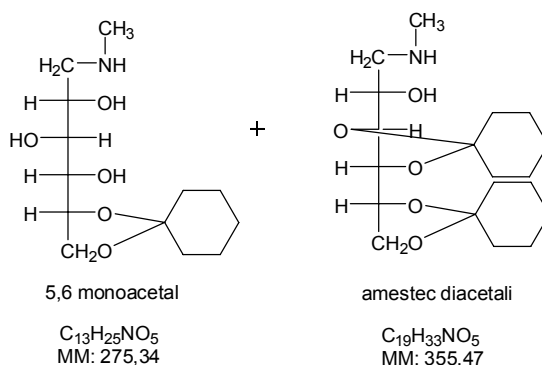


Figura 3-44.

Metoda 3A: (prin acetalarea NMG) **Figura 3-44.**

Într-un balon cu agitator magnetic și 1.0g (5.55×10^{-3} moli) NMG (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70°C) se adaugă 0.9ml (1.1eq, 6.0×10^{-3} moli) DMCH (1,1-dimetoxi ciclohexan) și 5ml DMF. În balonul scufundat în gheață se mai adaugă apoi 1.3ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (1eq, 5.55×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare până a 2-a zi până când controlul TLC indica sfârșitul reacției. După aceea peste amestec în balonul scufundat în gheață se adaugă ~2ml Et_3N . Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin antrenare repetată cu toluen. Reziduul obținut se supune purificării prin FC. Toți produșii obținuți se prezintă sub formă de cleiuri consistente la temperatura camerei.

TLC: AcOEt:MeOH 60:40, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ [$21\text{g}(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7 + 1\text{g Ce}(\text{SO}_4)_2 + 31\text{ml H}_2\text{SO}_4 + 469\text{ml H}_2\text{O}$] urmată de încălzire la 120°C . (R_f monoacetali=0.18, R_f diacetali=0.55)

Metoda 3B: (prin acetalarea NMG) **Figura 3-44.**

Într-un balon cu agitator magnetic și 2.04g (11.13×10^{-3} moli) NMG (uscat în prealabil 2 ore în etuvă la 70°C) se adaugă 5.1ml (3 eq, 33.41×10^{-3} moli) DMCH (1,1-dimetoxi ciclohexan) și 5ml DMF. În balonul scufundat în gheață se mai adaugă apoi 3ml $\text{HBF}_4 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (54%) (2eq, 22.26×10^{-3} moli). Amestecul de reacție se lasă sub agitare până a 2-a zi până când controlul TLC indica sfârșitul reacției. După aceea peste amestec în balonul scufundat în gheață se adaugă ~3ml Et_3N . Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor. DMF se evaporă prin adăugare repetată de toluen. Reziduul obținut se supune purificării prin FC. Se obțin 2 izomeri de monoacetal și 2 izomeri de diacetal. Toți produșii obținuți se prezintă sub formă de cleiuri consistente la temperatura camerei.

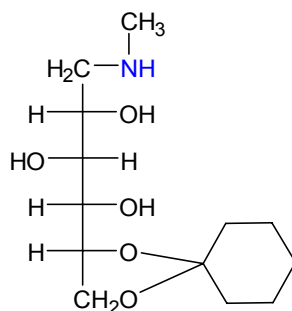
TLC: AcOEt:MeOH 60:40, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_2\text{O}_7/\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ și apoi încălzire. (R_f monoacetali=0.18, R_f diacetali=0.55)

FC: Datorită R_f -urilor apropiate ale izomerilor din produsul de reacție, spoturile sunt dificil de separat la o singură trecere prin coloană, astfel că se realizează treceri repetate ale amestecurilor prin coloana FC până la separarea completă a spoturilor. Se obțin complet puri 2 izomeri de monoacetal și 2 de diacetal.

Tabel 3-15. Condițiile de purificare ale amestecului de reacție prin FC

nr. FC	FC	Separare	Treceri coloana
FC 1	AcOEt:MeOH 80:20	separare monoacetali de diacetali	1
FC 3	AcOEt	separare diacetal de monoacetal și purificare diacetali	7
FC 2	AcOEt:MeOH 70:30	purificare monoacetali	1
FC 4	CHCl_3 :Acetona 85:15	purificare monoacetali	2

Obținerea NMG 5,6-mono-ciclohexiliden acetalului (B3)



$C_{13}H_{25}NO_5$
MM: 275,34

Figura 3-45.

Metoda 1 (cu H_2N-NH_2)

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se adaugă 0.10g monodiclohexiliden acetal (0.33×10^{-3} moli) și 0.8ml (50eq, 15.5×10^{-3} moli) hidrazina. Monoacetalul se solubilizează în hidrazina. Amestecul de reacție se menține sub agitare la temperatura de $70^\circ C$ și se monitorizează prin TLC. După 48 de ore la $70^\circ C$ controlul TLC arata dispariția starting material ceea ce arata că reacția a avut loc.

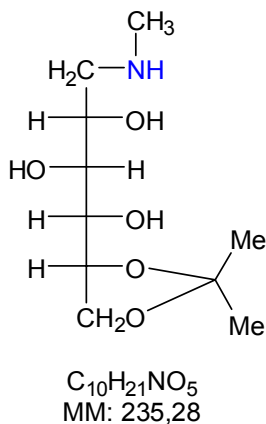
TLC: AcOEt:MeOH = 70:30, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmata de încălzire la $120^\circ C$.

Metoda 2 (cu Na)

Într-un balon cu agitator magnetic se adaugă 0.112g (0.353×10^{-3} moli) 5,6-monociclohexiliden acetal (*izomerul 1 de jos*), 4.0 ml n-butanol și o bucățică de Na metalic. Amestecul de reacție se încălzește apoi 2 ore la refluxul butanolului ($118^\circ C$) cu balonul scufundat într-o baie de glicerina. După 2h, controlul TLC (AcOEt:MeOH 70:30) indica consumarea starting material.

După ce amestecul de reacție se răcește, se diluează cu MeOH până la jumătatea balonului. Se adaugă sub agitare în picături 2-3ml H_2O distilata. Se concentrează amestecul de reacție la rotavapor până la sec (butanolul se scoate cu toluen). Apoi se extrage repetat produsul de reacție cu AcOEt. Se tranzvazează acetatul de etil într-un alt balon de reacție și se aduce la sec. La controlul TLC (AcOEt:MeOH 70:30) produsul de reacție este în start ($R_f=0$).

TLC: AcOEt:MeOH 70:30, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmata de încălzire la $120^\circ C$ sau vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de $(NH_4)_2Mo_2O_7/Ce(SO_4)_2$ [$21g(NH_4)_2Mo_2O_7 + 1g Ce(SO_4)_2 + 31ml H_2SO_4 + 469ml H_2O$] urmata de încălzire la $120^\circ C$.

Obținerea NMG 5,6-mono-izopropiliden acetalului**Figura 3-46.** 5,6-mono-izopropiliden acetalul NMG**Metoda 1** (cu H_2N-NH_2)

Într-un balon de reacție prevăzut cu termometru, refrigerent și agitator magnetic se adaugă 0.125g monoizopropiliden acetal (0.45×10^{-3} moli) și 1.09ml (50eq, 22.5×10^{-3} moli) hidrazina. Monoacetalul se solubilizează în hidrazina. Amestecul de reacție se menține sub agitare la temperatura de $70^\circ C$ și se monitorizează prin TLC. După 48 de ore la $70^\circ C$ controlul TLC arata dispariția starting material ceea ce arata că reacția a avut loc.

TLC: AcOEt:MeOH = 70:30, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmata de încălzire la $120^\circ C$.

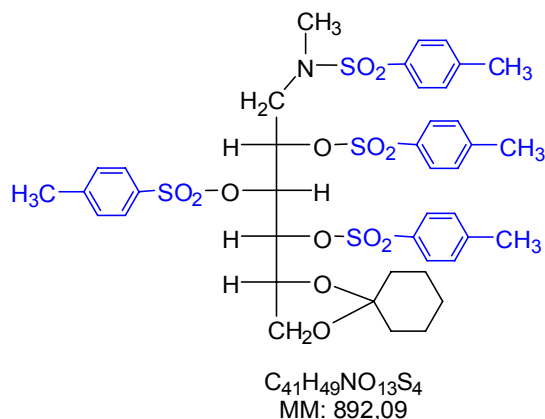
R_f (monoizopropiliden acetal-martor) = 0.65, R_f (produs de reacție) = 0.06

Metoda 2 (cu Na)

Într-un balon cu agitator magnetic se adaugă 0.145g (0.523×10^{-3} moli) 5,6-monoizopropiliden acetal (izomerul 1 de jos), 4.0 ml n-butanol și o bucățică de Na metalic. Amestecul de reacție se încălzește apoi 2 ore la refluxul butanolului ($118^\circ C$) cu balonul scufundat într-o baie de glicerina. După 2h, controlul TLC (AcOEt:MeOH 70:30) indica consumarea starting material.

Amestecul de reacție se răcește iar apoi se diluează cu MeOH până la jumătatea balonului. Se adaugă 1-2 picături de H_2O distilata și apoi în porții cationit CS31 până la pH neutru. Cationitul s-a lăsat în prealabil ~1 ora în MeOH să se gonfleze. Se filtrează amestecul de reacție iar extractul metanolic ce conține produsul de reacție se concentrează la rotavapor. La controlul TLC nu se mai observa produsul de reacție.

TLC: AcOEt:MeOH 45:55, vizualizare prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) și apoi încălzire la $120^\circ C$

Obținerea NMG 5,6-mono-ciclohexiliden acetalului tosilat:**Figura 3-48.** NMG 5,6-mono-ciclohexiliden acetalul tosilat**Mod de lucru:**

În balonul cu amestecul de reacție ce conține monociclohexiliden acetali ($\sim 0.33 \times 10^{-3}$ moli) s-a adăugat 1ml Pyr. Balonul s-a scufundat în gheață și apoi s-au adăugat 0.50g clorura de tosil (pTSCI) (8eq, 2.65×10^{-3} moli) și o cantitate catalitică de 4-DMAP. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la temperatura camerei și se monitorizează prin TLC (AcOEt:MeOH 90:10). După 24h s-a mai adăugat 1ml Pyr. După aproximativ 72h după ce controlul TLC indica consumarea ciclohexiliden monoacetalului, se oprește reacția prin adăugarea de 1ml MeOH. La adăugarea MeOH balonul este scufundat în gheață. Amestecul de reacție se concentrează la rotavapor, piridina fiind îndepărtată prin antrenare repetată cu xilen și toluen sub vid. Amestecul obținut urmează a fi supus purificării și separării prin FC (Tol:Eter de Petrol 45:55).

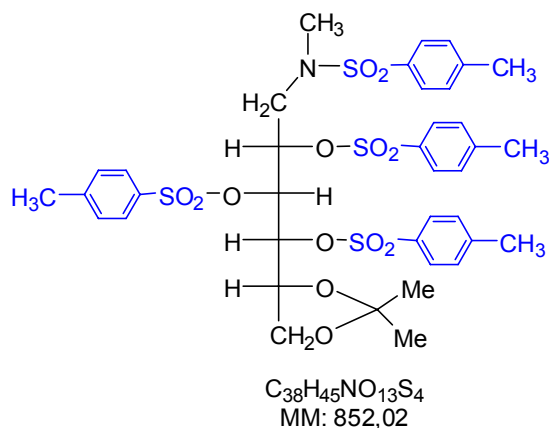
TLC: AcOEt:MeOH 90:10, vizualizare la lampa UV și apoi prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la $120^\circ C$.

R_f (monoacetal) = start, R_f (produs reacție) = 0.74, R_f (pTSCI-martor) = in start

FC: Tol:Eter de Petrol 45:55 (R_f = 0.29) și apoi Tol:Eter de Petrol 70:30 (R_f = 0.36).

Obs.: - După adăugarea pTSCI amestecul de reacție se colorează în portocaliu intens

- Amestecul de mono-ciclohexiliden acetali a fost uscat la vid $\sim 24h$ înainte de a se porni reacția

Obținerea NMG 5,6-mono-izopropiliden acetalului tosilat:**Figura 3-50.** NMG 5,6-mono-izopropiliden acetalul tosilat**Mod de lucru:**

În balonul cu amestecul de monoizopropiliden acetali ($\sim 0.45 \times 10^{-3}$ moli) s-a adăugat 1ml piridină. Balonul s-a scufundat în gheață și apoi s-au adăugat 0.69g clorură de tosil (pTSCI) (8eq , 3.6×10^{-3} moli) și o cantitate catalitică de 4-DMAP. Se lasă amestecul de reacție sub agitare la temperatura camerei și se monitorizează prin TLC (AcOEt:MeOH 70:30). După 24h s-a mai adăugat 1ml piridină. La aproximativ 72h după ce controlul TLC indica consumarea izopropiliden monoacetalului, se oprește reacția prin adăugarea de 1ml MeOH. Când se adaugă MeOH balonul este scufundat în gheață. Amestecul de reacție se concentrează la rotavapor, piridina fiind îndepărtată prin antrenare repetată cu xilen și toluen sub vid. Amestecul obținut urmează a fi supus purificării și separării prin FC (Tol:Eter de Petrol 75:25).

TLC: AcOEt:MeOH 70:30, vizualizare la lampa UV și apoi prin dezvoltare cu o soluție de 20% H_2SO_4 în EtOH (v/v) urmată de încălzire la 120°C .

$R_f(\text{monoacetal}) = \text{start}$, $R_f(\text{produs reacție}) = 0.37$

FC: Tol:Eter de Petrol 75:25

Obs.: - După adăugarea pTSCI amestecul de reacție se colorează în portocaliu intens.

3.5. Bibliografie

- [1] Green, T, Wuts, P G M, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed., Wiley, New York, **1999**.
- [2] Hanson, J R, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Sheffield Academic Press, New York, **1999**.
- [3] Robertson, J, *Protecting Group Chemistry*, Oxford University Press, New York, **2000**.
- [4] Kocienski, P, *Protecting Groups*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **2000**, corrected edition.
- [5] Jarowicki, K, Kocienski, P, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1*, 4005 – 4037, **1998**; 1589 – 1616, **1999**; 2495 – 2527, **2000**; 2109 – 2135, **2001**.
- [6] Clarke, P A, Martin, W H C, *Annu. Rep. Prog. Chem. Sect. B*, 99, 84 – 103, **2003**.
- [7] Haines, A, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 33, 11 – 109, **1976**.
- [8] Iseloh, U, Dudkin, V, Wang, Z G, Danishefsky, S, *Tetrahedron Lett.*, 43, 7027 – 7030, **2002**.
- [9] deBelder, A N, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 20, 219 – 302, **1965**; 34, 179 – 241, **1977**.
- [10] Garegg, P J, Swahn, C G, *Methods Carbohydr. Chem.*, 8, 317 – 319, **1980**
- [11] Byramova, N E, Ovchinnikov, M V, Backinowsky, L V, Kochetkov, N K, *Carbohydr. Res.*, 124, C8 – C11, **1983**.
- [12] Josephson, S, Bundle, D R, *Can. J. Chem.*, 57, 3073 – 3079, **1979**.
- [13] Lefebvre, D J, Kamerling, J P, Vliegthart, J F G, *Org. Lett.*, 2, 701 – 703, **2000**.
- [14] Vlahov, J, Snatzke, G, *Liebigs. Ann. Chem.*, 570 – 574, **1983**.
- [15] Daniel E. Levy, Péter Fugedi, *The Organic Chemistry of Sugars*, CRC, Taylor & Francis Group LLC, a) pg.74-80, b) pg. 75-77, c) pg.77-80, **2006**
- [16]. Jones, S S, Reese, C B, *J. Chem. Soc. Perkin. Trans. 1*, 2762 – 2764, **1979**.
- [17] Borbas, A, Szabo, Z B, Szilagyi, L, Benyei, A, Liptak, A, *Tetrahedron*, 58, 5723 – 5732, **2002**.
- [18] Ellervik, U, *Tetrahedron Lett.*, 44, 2279 – 2281, **2003**.
- [19] Ley, S V, Baeschlin, D K, Dixon, D J, Foster, A C, Ince, S J, Priepke, H W M, Reynolds, D J, *Chem. Rev.*, 101, 53 – 80, **2001**.
- [20] Garegg, P J, Iversen, T, Johansson, R, *Acta Chem. Scand. Ser. B*, 34, 505 – 508, **1980**
- [21] Ito, Y, Ohnishi, Y, Ogawa, T, Nakahara, Y, *Synlett*, 10, 1102 – 1104, **1998**

- [22] K. Hill, K., O. Rhode - *Fett/Lipid*, 101, **1999**, 25
- [23] T. Maugard, M. Remaud-Simeon, D. Petre, P. Monsan - *Biocatalysis Biotransform.*, 16, **1998**, 383
- [24] H.Möller, W. Knörr, M. Weuthen, B. Guckenbiehl, A.Wachter - *Fett/Lipid*, 99, **1997**, 120
- [25] M. Woudenberg-van Oosterom, F. van Rantwijk, R.A. Sheldon - *Fett/Lipid*, 98, **1996**, 390.
- [26] T. Maugard, M. Remaud-Simeon, D. Petre, P. Monsan- *J. Mol. Cat. B: Enzymatic*, 5, **1998**, 13.
- [27] F. Peter, A. Mirescu, E. A. Oostveen, J. van Haveren, G. Preda - *The IVth International Symposium of Interdisciplinary Regional Research*, Timișoara, **2000**, 711-718.
- [28] E. Fischer, *Berichte*, 28, **1895**, 1145
- [29] P. Calinaud, J. Gelas - *Preparative Carbohydrate Chemistry* (S. Hanessian, Ed.), Marcel Dekker Inc., N. Y., **1997**, Pg. 3-35
- [30] S. A. Barker, E. J. Bourne - *Adv. Carbohydr. Chem.*, 7, **1952**, 137
- [31] A. N. De Belder - *Adv. Carbohydr. Chem.* 20, **1965**, 219
- [32] A. N. De Belder - *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 34, **1977**, 179
- [33] R. F. Brady, Jr. - *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 26, **1971**, 197
- [34] Oprean I., *Spectrometria de masa a compusilor organici*, Ed. Dacia, Cluj, **1974**, pg.149
- [35] I. J. Burden, J. F. Stoddart - *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1975**, 675
- [36] J. P. Clayton, R. S. Oliver, N. H. Rogers, T. J. King - *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1979**, 838
- [37] J. G. Buchanan, M. E. Chacon-Fuertes, A. R. Edgar, S. M. Moorhouse, D. I. Rawson, R. H. Wightman, *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21, 1793-1796.
- [38] J. G. Buchanan, A. R. Edgar, D. I. Rawson, P. Shahidi, R. H. Wightman, *Carbohydr. Res.*, **1982**, 100, 75-86.
- [39] T. B. Grindley, C. J. P. Cote, C. Wickramage - *Carbohydr. Res.*, 140, **1985**, 215
- [40] G. W. Schnarr, D. M. Vyas, W. A. Szarek, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1979**, 496-503.
- [41] D. Horton, J. D. Wander, *Carbohydr. Res.*, **1968**, 10, 279-288.
- [42] S. J. Angyal, R. Lefur, *Carbohydr. Res.*, **1980**, 84, 201-209.
- [43] E. Șîșu, C. Neanu, M. Căproiu, I. Șîșu, A. Lascu, F. Peter, V. Rusu, C. Csunderlik, *Rev. Chim. (Bucharest)*, **2002**, 53, 750-754.
- [44] E. Șîșu, C. Neanu, M. Căproiu, I. Șîșu, A. Lascu, F. Peter, V. Rusu, C. Csunderlik, *Rev. Chim. (Bucharest)*, **2002**, 53, 815-818.
- [45] R. Albert, K. Dox, *Carboh. Res.*, 137, **1985**, 282-290

- [46] Dennis D. Keith, John A. Tortora, Roxana Yang, *J. Org. Chem*, vol 43, nr. 19, **1978**, pg. 3711-3713
- [47] *Bulletin de la Societe Chimique de France*, **1975**, II, pg. 2558-2590
- [48] E. Şişu, N. Dincă, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, V. Rusu - *Scien. and Techn. Bull. Univ. of "A. Vlaicu" Arad*, Ser. Chem. Food Sci. & Engin. 6 (VII) **2001**, 43-45
- [49] E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Neanu, N. Dincă, Georgeta Simu, V. Rusu - *Scien. and Techn. Bull. Univ. of "A. Vlaicu" Arad*, Ser. Chem. Food Sci. & Engin. 6 (VII), **2001**, 55-57
- [50] Ioana Sisu, Anca Lascu, C. Neanu, E. Sisu - *Annals of West University of Timisoara*, series of chemistry, vol. 13 (1), (**2004**), pg. 17-22
- [51] C. Neanu, E. Şişu, Ioana Şişu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timisoara*, ser.chem., 12 (1) (**2003**), 1217-1222
- [52] E. Şişu, C. Neanu, Ioana Şişu, Anca Lascu, F. Peter, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timisoara*, ser.chem., 12 (1) (**2003**), 1223-1229
- [53] C. Neanu, F. Peter, Ioana Şişu, C. Csunderlik, E. Şişu - *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Cluj Napoca, Chemia. Anul LI, (1), pg. 59-66, 2006*, Cluj University Press
- [54] C. Neanu, Anca Lascu, C. Csunderlik - *Rev. Roum. Chim.*, **2007**, 52 (8-9)
- [55] E. Şişu, C. Neanu, Ioana Şişu, Anca Lascu, F. Peter - *Fourth Post-Graduate Summer School on Green Chemistry, Venezia – ITALY, September 10-16, 2001*

CAPITOLUL 4:

CONCLUZII GENERALE

Rezultatele obținute în cadrul acestei teze de doctorat sunt sumarizate în continuare:

În prima parte a tezei consacrată: „SINTEZEI ȘI INVESTIGĂRII UNOR INHIBITORI ENZIMATICI GLICOZIDICI CU IMPORTANȚĂ ÎN AFECȚIUNILE UMANE” s-a reușit punerea la punct a unei metode de obținere β -manozidei țintă (**82**), compus cu importanță biologică, cu potențială activitate de inhibitor de glicozidaze. În continuare acest compus, după deprotejarea de grupele protectoare urmează a fi supus testelor biologice pentru determinarea concentrației minime ca inhibitor (MIC) (*minimum inhibitory concentration*), cercetările ulterioare urmând apoi a se concentra asupra optimizării reacțiilor atât din punctul de vedere al randamentelor etapelor intermediare cât și în ceea ce privește inversia de conformație și stereoselectivitatea α/β . De asemenea compusul sintetizat (**82**) fiind el însuși un donor de glicozil „*activat*”, poate fi angajat cu ușurință în sinteza de molecule mari, studii pe acest subiect urmând a fi avute de asemenea în vedere pe viitor.

Ca obiective intermediare în cadrul acestui proiect de cercetare, s-au realizat următoarele:

1. S-a obținut „*activarea*” conformațională a unei tiomanozide prin inversia conformației din 4C_1 în 1C_4 și s-au realizat studii 1H -RMN privind condițiile de temperatură în care conformerul 1C_4 (mai reactiv) devine predominant.
2. S-a realizat cu succes sinteza stereoselectivă a unei tiomanozide ca donor de glicozil „*puternic activat*” din punct de vedere conformațional (compusul **76**).
3. S-au investigat condițiile optime (catalizator, solvent și temperatură) necesare controlului stereochemiei în direcția formării unei β -manozide, utilizând ca și acceptor de glicozil *n*-octanolul.
4. S-a realizat un studiu preliminar al condițiilor de cuplare a tiomanozidei sintetizate „*puternic activată*” (ca donor de glicozil) cu glicozil acceptorul „*activat*” (sintetizat de asemenea în cadrul grupului) în vederea obținerii β -manozidei **82** ca și compus cu importanță biologică.

Această parte a tezei a fost realizată într-un stagiu de doctorat Marie Curie în perioada 2003-2004 la Facultatea de Chimie a Universității Aarhus –DANEMARCA, în cadrul grupului de Chimie Bioorganică condus de Prof. Dr. Mikael Bols

În partea a 2-a a tezei: „SINTEZE DE AMINOALDITOL ACETALI CA INTERMEDIARI ÎN OBTINEREA PSEUDOCERAMIDELOR” s-a reușit cu succes sinteza și caracterizarea prin metode de spectroscopie RMN, a unor mono- și diacetali ai N-acetil-N-metil-glucaminei ca intermediari în obținerea de pseudoceramide (compuși ce „mimează” o ceramidă naturală).

Ca obiective intermediare în cadrul acestui proiect de cercetare, s-au realizat următoarele:

5. S-au sintetizat cu succes mono- și diacetali benzilidenici, izopropilidenici și ciclohexilidenici ai N-acetil-N-metil-glucaminei ca și compuși intermediari în obținerea pseudoceramidelor.
6. S-au analizat și caracterizat cu succes prin spectroscopie de RMN acetali sintetizați (18 compuși), toți fiind compuși noi, necunoscuți în literatură. În total s-au realizat aproximativ 45 de sinteze cu diferite proceduri și condiții de reacție obținându-se 35 de compuși diferiți.
7. S-a studiat reacția de obținere a benziliden-acetalilor, ciclohexiliden-acetalilor și izopropiliden-acetalilor în condițiile catalizei cu ACS, APTS și HBF_4 .
8. S-au făcut studii privind controlul cinetic și termodinamic al reacțiilor de acetalare în scopul obținerii monoacetalilor ca și produs de reacție predominant.
9. S-a investigat capacitatea de deacetilare la N a derivaților acetilați ai glucaminei precum și a glucaminei, atât cu $\text{NH}_2\text{-NH}_2$ cât și cu Na.
10. S-au investigat proceduri de simplificare a spectrelor RMN a acetalilor sintetizați prin acetilări cu anhidridă acetică, tosilări cu pTSCI și deacetilare la N a acetalilor sintetizați, cu scopul de a împrăști semnalele celor 8 protoni din intervalul 3.3-4.3 ppm, precum și pentru a elimina existența izomerilor *cis/trans*.

Această parte a tezei a fost realizată la Academia Romană - Institutul de Chimie Timișoara în cadrul grupului de Glicobiologie al Secției de Chimie Organică, condus de CS1. Dr. Eugen Șîșu

Lista Publicațiilor:

Articole publicate în tematica tezei de doctorat:

- [1]. Pseudoceramide și derivați ai acestora. 1. Izopropiliden acetali ai N-acetil-N-metil glucozaminei - un studiu preliminar - E. Șîșu, **C. Neanu**, M. Căproiu, Ioana Șîșu, Anca Lascu, F. Peter, V. Rusu, C. Csunderlik - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53, (11), **2002**, 750-754
- [2]. Pseudoceramide și derivați ai acestora 2. Ciclohexiliden acetali ai N-acetil-N-metil glucozaminei - E. Șîșu, **C. Neanu**, M. Căproiu, Ioana Șîșu, Anca Lascu, F. Peter, V. Rusu, C. Csunderlik - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53, (12), **2002**, 815-818
- [3]. Pseudoceramides and their derivatives. (Benzylidene acetals of N-acetyl-N-methyl glucamine) - **C. Neanu**, Anca Lascu, C. Csunderlik - *Rev. Roum. Chim.*, **2007**, 52 (8-9) (omagial V. Sahini)
- [4]. Selective Deacetalation by Szarek Method for Aldose and Aminoalditol Diacetals - E. Șîșu, N. Dincă, Ioana Șîșu, Anca Lascu, **C. Neanu**, V. Rusu - *Scien. and Techn. Bull. Univ. of "A. Vlaicu" Arad, Ser. Chem. Food Sci. & Engin.* 6 (VII) (**2001**), 43-45
- [5]. An Extension of Ozaki's Debenzylation Methods for Glucose Derivatives - E. Șîșu, Ioana Șîșu, Anca Lascu, **C. Neanu**, N. Dincă, Georgeta Simu, V. Rusu - *Scien. and Techn. Bull. Univ. of "A. Vlaicu" Arad, Ser. Chem. Food Sci. & Engin.* 6 (VII) (**2001**), 55-57
- [6]. Synthesis of N-acetyl-N-methyl-1-amino-1-deoxy-D-glucitol monocyclohexylidene acetal - **C. Neanu**, E. Șîșu, Ioana Șîșu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timisoara, ser.chem.*, 12 (1) (**2003**), 1217-1222
- [7]. Synthesis of 5,6-O-isopropylidene acetal of N-acetyl-N-methyl glucosamine - E. Șîșu, **C. Neanu**, Ioana Șîșu, Anca Lascu, F. Peter, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timisoara, ser.chem.*, 12 (1) (**2003**), 1223-1229
- [8]. Preliminary Study of Sugar Deprotection Reactions Kinetics - Ioana Sîșu, Anca Lascu, **C. Neanu**, E. Sîșu - *Annals of West University of Timisoara, series of chemistry, vol. 13 (1)*, (**2004**), pg. 17-22
- [9]. Pseudoceramides and Their Derivatives. 3. Benzylidene Acetals of N-Acetyl-N-Methyl Glucamine - Preliminary Study - **C. Neanu**, F. Peter, Ioana Șîșu, C. Csunderlik, E. Șîșu - *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Cluj Napoca, Chemia. Anul LI, (1)*, pg. 59-66, **2006**, Cluj University Press
- [10]. Acetals of aminoalditols - Valuable synthons in the synthesis of pseudoceramides - E. Șîșu, **C. Neanu**, Ioana Șîșu, Anca Lascu, F. Peter -

Fourth Post-Graduate Summer School on Green Chemistry, Venezia – ITALY, September 10-16, 2001

- [11]. Aminoalditol Acetals as Starting Materials in the Synthesis of Biocompatible Emulsifiers - E. Şişu, F. Peter, C. Csunderlik, Ioana Şişu, Anca Lascu, **C. Neanu**, V. Badea, V. Rusu - *12th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE 12), Bucharest, ROMANIA, September 13-15, 2001*
- [12]. Aminoalditol acetals as starting materials in the synthesis of biocompatible emulsifiers - E. Şişu, F. Peter, C. Csunderlik, M. Căproiu, Ioana Şişu, Anca Lascu, **C. Neanu**, V. Badea, V. Rusu - *3rd International Conference of the Chemical Societies of the South-Eastern European Countries on Chemistry in the New Millennium – an Endless Frontier- september 22-25, 2002, Bucharest, ROMANIA*
- [13]. Sinteze de intermediari în obținerea pseudoceramidelor. 1. Ciclohexiliden acetali ai N-Acetil-N-Metil glucaminei - E. Şişu, M. Căproiu, **C. Neanu**, V. Badea, Ioana Şişu, Anca Lascu, F. Peter, C. Csunderlik, V. Rusu - *XXVII-a Conferință Națională de Chimie, 23-25 octombrie 2002, Călimănești-Căciulata, Vâlcea, ROMANIA*, pg. 44
- [14]. Sinteze de intermediari în obținerea pseudoceramidelor. 1. Izopropiliden acetali ai N-Acetil-N-Metil glucaminei - E. Şişu, **C. Neanu**, M. Căproiu, V. Badea, Ioana Şişu, Anca Lascu, F. Peter, C. Csunderlik, V. Rusu - *XXVII-a Conferință Națională de Chimie, 23-25 octombrie 2002, Călimănești-Căciulata, Vâlcea, ROMANIA*, pg. 99
- [15]. Studies Concerning Selective Deacetalation of Sugar Diacetals - **C. Neanu**, Anca Lascu, Ioana Şişu, E. Şişu - *New Trends in Chemistry Research, Timișoara, 14 – 15 November 2002, Timișoara, ROMANIA*, pg.: 186-189, (electronic volume)
- [16]. A Mild Debenzylation Method for Benzylated Derivatives of Sugars - Anca Lascu, **C. Neanu**, Ioana Şişu, E. Şişu - *New Trends in Chemistry Research, Timișoara, 14 – 15 November 2002, Timișoara, ROMANIA*, pg.: 234-237, (electronic volume)
- [17]. Sinteze de Acetali ai Aminoalditolilor - Synthesis of Aminoalditol Acetals - **C. Neanu**, Ioana Şişu, Anca Lascu, E. Şişu, V. Rusu, M. Căproiu, F. Peter, C. Csunderlik - *The IVth International Symposium „Young People and Multidisciplinary Research”, Romania-Iugoslavia-Ungaria, November 14-15, 2002, Timișoara, ROMANIA*
- [18]. Strategii moderne în sinteza glicozidelor - Anca Lascu, Alfa Xenia Lupea, Ioana Şişu, **C. Neanu**, V. Rusu, E. Şişu - *ACADEMIC DAYS - The 8th Edition, Timișoara, ROMANIA, 22 - 23 May 2003*, pg.: 271-278, (electronic volume - CD-ROM)

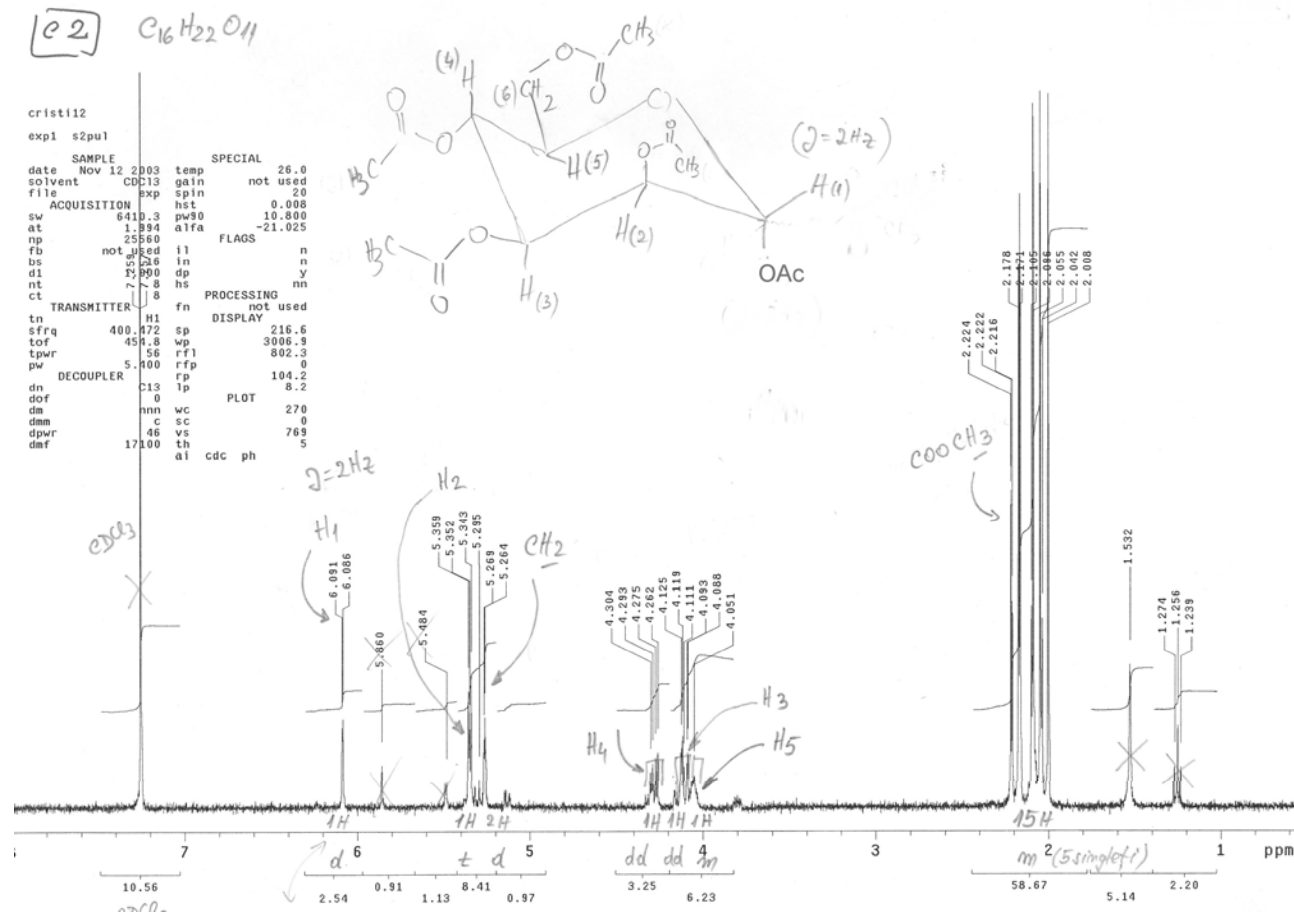
Articole publicate în domenii conexe tezei de doctorat:

- [1]. Glucozilsulfonele, sintoni valoroși în obținerea C, O-glicozidelor - E. Șișu, Alina Zamfir, Ioana Șișu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, V. Rusu, Jasna Peter Katalinic - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53, (11), **2002**, 779-781.
- [2]. Glicopiranozil fenilsulfone, intermediari valoroși în sinteza C-glicozidelor. 5. Un intermediar, două glucopiranozil-fenilsulfone - E. Șișu, Alina Zamfir, Ioana Șișu, **C. Neanu**, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Rusu, Jasna Peter Katalinic - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 53 (12), **2002**, 848-850.
- [3]. New Glycosyl Derivatives of 5-Substituted-3-mercapto-1,2,4-triazole - E. Șișu, Anca Lascu, V. Bercean, M. Căproiu, Alina Zamfir, Ioana Șișu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, V. Rusu, Jasna Peter Katalinic - *Rev. Chim. (Bucharest)*, 54, (2), **2003**, 181-183.
- [4]. Sinteză și caracterizare prin MS a acetalilor de benzofenone - E. Șișu, Ioana Șișu, Anca Lascu, **C. Neanu**, V. Rusu - *Analele Universității "Aurel Vlaicu", Arad, ser. chim. fasc. Chimie si protecția mediului*, **2000**, 325-329
- [5]. Nitrofenilcarbonati micști ca donori de glicozil în sinteza oligozaharidelor cu semnificație biologică - E. Șișu, Ioana Șișu, Anca Lascu, **C. Neanu**, V. Rusu -- *Analele Universității "Aurel Vlaicu", Arad, ser. chim. fasc. Chimie si protecția mediului*, **2000**, 329-333
- [6]. Some Considerations Concerning MS Spectra of x, x'-Benzophenone Acetals - Anca Lascu, E. Șișu, Ioana Șișu, **C. Neanu**, Loredana Humă, V. Rusu - *Proceedings of the IV-th International Symposium Regional Multidisciplinary Research, Romania-Yugoslavia-Ungaria, 16-18 Noiembrie, 2000, Timișoara, Romania*, pg.: 758-763, (electronic volume - CD ROM)]
- [7]. p-Nitrophenylcarbonate as A New Leaving Group in the Oligosaccharides Synthesis - **C. Neanu**, E. Șișu, Ioana Șișu, Anca Lascu, E. Șeclăman, Loredana Humă, V. Rusu - *Proceedings of the IVth International Symposium Regional Multidisciplinary Research, Romania-Yugoslavia-Ungaria, 16-18 Noiembrie, 2000, Timișoara, Romania*, pg.: 764-767, (electronic volume - CD ROM)]
- [8]. Synthesis of Glycopyranosyl Phenyl Sulfone-Valuable Synthons in C-Glycosides Synthesis. 1. Synthesis of Phenyl 2,3-di-O-benzyl- 4,6-O-benzylidene- 1-thio-β-D-glucopyranoside - E. Șișu, Ioana Șișu, Anca Lascu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timișoara*, ser. chem., 10 (2) (**2001**), 399-404
- [9]. Synthesis of Glycopyranosyl Phenyl Sulfone-Valuable Synthons in C-Glycosides Synthesis. 2. Synthesis of Phenyl 2,3,4-tri-O-benzyl- β-D-glucopyranosil phenyl sulfone - E. Șișu, Anca Lascu, Ioana Șișu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, V. Rusu - *Annals of West University of Timișoara*, ser. chem., 10 (2) (**2001**), 405-410
- [10]. Synthesis of Glycopyranosyl Phenyl Sulfone-Valuable Synthons in C-Glycosides Synthesis. 3. Synthesis of Phenyl 3-O-benzyl- 1-thio- β-D-glucopyranoside - E. Șișu, **C. Neanu**, Ioana Șișu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Rusu- *Annals of West University of Timișoara*, ser. chem., 10 (2) (**2001**), 411-416

- [11]. Synthesis of Glycopyranosyl Phenyl Sulfone - Valuable Synthons in C-Glycosides Synthesis. 4. Synthesis of (3-O-benzyl- 4,6-O-benzylidene- β -D-glucopyranosil) Phenyl Sulfone - E. Șișu, Ioana Șișu, Anca Lascu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, Loredana Humă, V. Rusu - *Annals of West University of Timișoara*, ser. chem., 10 (2) (**2001**), 417-422
- [12]. Computational Methods in Conformational Analysis of Carba - Sugar Superior Analogs - E. Șeclăman, E. Șișu, Z. Simon, F. Elenes, M. Mracec, **C. Neanu** - *World Chemistry Congress (IUPAC 38th Congress)*, Brisbane, **AUSTRALIA**, 1-6 July **2001**, PE 50, pg. 487
- [13]. Active Principles from Cannabis Sativa and Papaver Somniferum and Their Identification by GC-MS Methods - Ioana Șișu, N.Dincă, **C. Neanu**, Anca Lascu, E. Șișu - *New Trends in Chemistry Research, Timișoara*, 14 - 15 November **2002**, Timișoara, Romania, pg.: 162-164, (electronic volume)
- [14]. Syntheses of glycosyl sulfones, intermediates in obtaining C, O-glycosides - E. Șișu, Anca Lascu, **C. Neanu**, Alina Zamfir, Ioana Șișu, V. Rusu - *Fifth Summer School on Green Chemistry, Venice - ITALY*, September 8-14, **2002**, pg. 26
- [15]. Synthesis of S-Glycosides by PTC - Ioana Șișu, V. Bercean, Anca Lascu, M. Căproiu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, V. Rusu, E. Șișu - *Sixth Post-Graduate Summer School on Green Chemistry, Venezia - ITALY*, August 31th - September 6, **2003**
- [16]. New Synthesis of glycosyl sulfones - Anca Lascu, E. Șișu, **C. Neanu**, Ioana Șișu, V. Rusu, C. Csunderlik - *Annals of West University of Timișoara*, ser.chem., 12 (3) (**2003**), 1213-1216
- [17]. Study of the Coupling Reaction for Obtaining a Functionalized Lactose Block - E. Șișu, Ioana Șișu, Anca Lascu, **C. Neanu**, V. Rusu, C. Csunderlik - *Annals of West University of Timișoara*, ser.chem., 12 (1) (**2003**), 1229-1232
- [18]. Synthesis of S-glycosides by PTC - Ioana Șișu, V. Bercean, Anca Lascu, **C. Neanu**, C. Csunderlik, V. Rusu, E. Șișu - *Annals of West University of Timișoara*, ser.chem., 12 (1) (**2003**), 1233-1238
- [19]. Strategii de sinteză a carbazaharurilor - **C. Neanu**, C. Csunderlik, Ioana Șișu, Anca Lascu, V. Rusu, E. Șișu - *ACADEMIC DAYS - The 8th Edition, Timișoara, Romania*, 22 - 23 May **2003**, pg.: 233-242, (electronic volume - CD-Rom)
- [20]. New Synthesis of Glycosyl Derivatives of 5-Substituted-3-Mercapto-1,2,4-Triazole - **C. Neanu**, Ioana Șișu, Anca Lascu, C. Csunderlik, V. Bercean, E. Șișu - *Ischia Advanced School of Organic Chemistry - IASOC, Ischia Porto (Napoli) - ITALY*, September 18-23, **2004**
- [21]. Metode de Obținere a Tioglicozidelor - Donori de Glicozil în Chimia Carbohidraților (Preparation of Thioglycosides - Glycosil Donors in Carbohydrate Chemistry) - **C. Neanu**: *New Trends in Chemistry Research, Third Edition, Timișoara*, 10-11 November **2005**, Romania, pg. 19
- [22]. Strategii de Sinteză ale C-Glicozidelor. 1. Reacții de cianurare - **C. Neanu**: - *New Trends in Chemistry Research, Third Edition, Timișoara*, 10-11 November **2005**, Romania, pg. 20

- [23]. Strategii de Sinteză ale C-Glicozidelor - Reacții de Alchilare, Alenilare, Alilare și Alchinare - **C. Neanu**, A. Lascu - *140 de ani de la înființarea Academiei Române. Sesiune de Comunicări Științifice. Timișoara, România, 13 Aprilie 2006, volum electronic (CD-ROM) p. 72-79, 2006*
- [24]. Mim de nucleozidă - Șișu I., Badea V., **Neanu C.**, Bercean V. - *140 de ani de la înființarea Academiei Române. Sesiune de Comunicări Științifice. Timișoara, România, 13 Aprilie 2006, volum electronic (CD-ROM) p. 91-94, 2006*
- [25]. High performance electrospray and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of modified maltodextrins and dextrans - E. Șișu, I. Șișu, I. Scurtu, N. Dincă, A. Șerb, **C. Neanu**, J. Peter-Katalinić, A. D. Zamfir - *2nd Advanced Spectroscopies on Biomedical and Nanostructured Systems, September 3-6, 2006, Cluj-Napoca, ROMANIA*, Book of Abstracts pg.165
- [26]. Nucleoside Mimics from Mercaptotriazols using Phase-Transfer Conditions - Ioana Șișu, V. Bercean, **C. Neanu**, V. Badea, Ileana Scurtu, E. Șișu - *12th International Conference on Physical Chemistry "Romphyschem-12", September 6-8, 2006, Bucharest - ROMANIA*, Book of Abstracts pg. 224
- [27]. The synthesis of Glycosil-sulphone Starting from S-Phenyl Glycosides, using in Situ Generated Dioxiranes as Oxidizing Reagents - I. Șișu, N. Dincă, **C. Neanu**, Lascu A., Popescu D., Șișu E. - *XXIX-th Romanian Chemistry Conference, Călimănești-Căciulata, Vâlcea, ROMANIA, 4-6 October, 2006, Book of Abstracts p.128, 2006. (ISBN-10 973-750-049-0)*
- [28]. Sinteze de C-glicozide. O reacție neașteptată în seria furanozică - I. Șișu, A. Lascu, **C. Neanu**, V. Rusu, E. Șișu - *Timișoara's Academic Days, 10th edition, 24-25 May, 2007, Chemistry Symposium, Timișoara, Romania, electronic vol. [CD], abstract no. 31, 2007*
- [29]. Determinarea unor markeri topospecfici în ganglioizidele din creier prin spectrometrie de masă - C. Flangea, Z. Vukelic, V. Rusu, **C. Neanu**, I. Șișu, A. D. Zamfir - *Timișoara's Academic Days, 10th edition, 24-25 May, 2007, Chemistry Symposium, Timișoara, Romania, electronic vol. [CD], abstract no. 32, 2007*

ANEXA 1: ^1H -RMN penta acetil α -D-manoza (84)

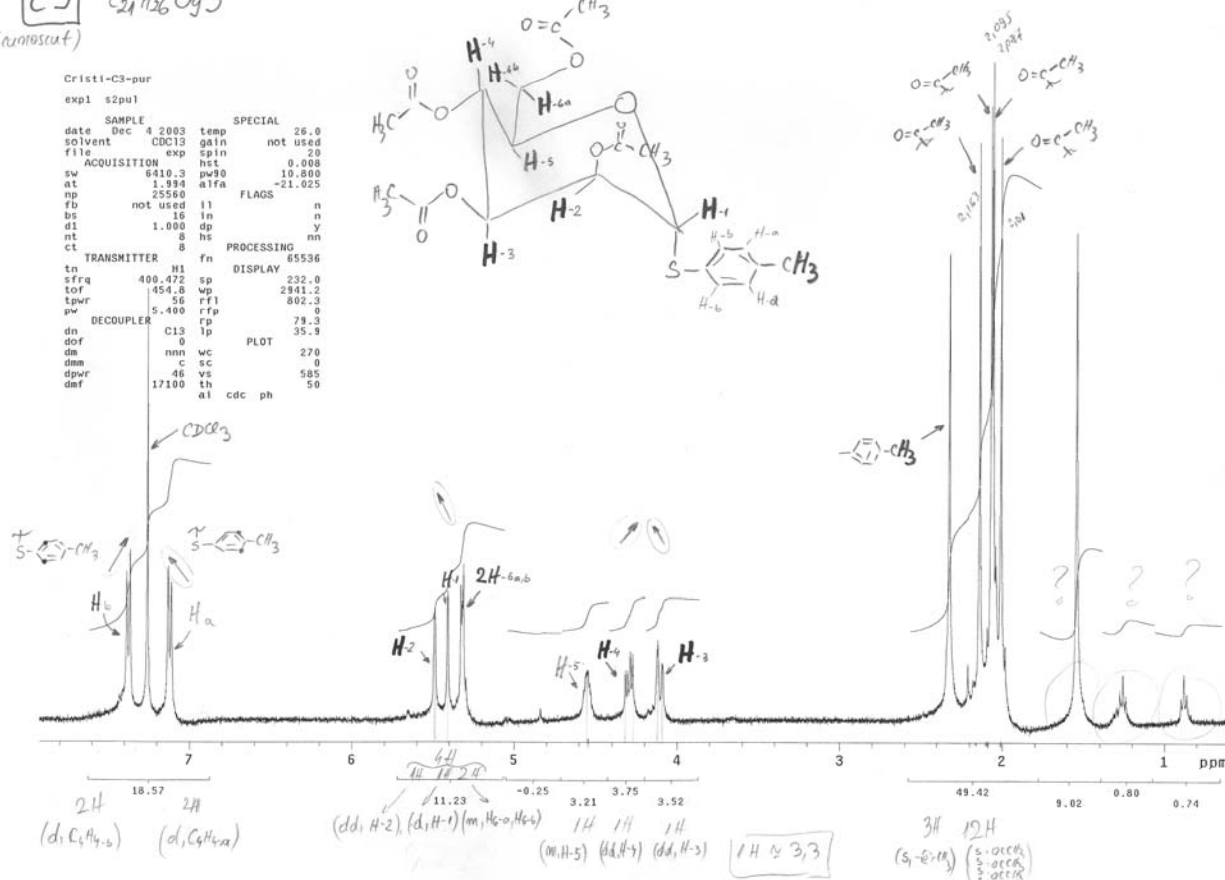
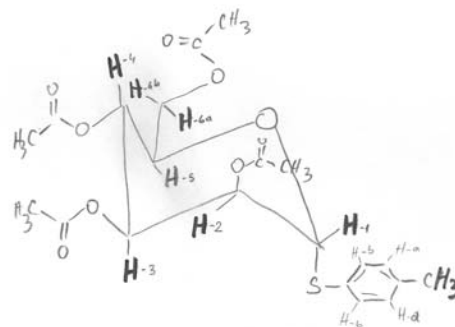


ANEXA 2: ^1H -RMN *p*-metilfenil-2,3,4,6-tetra-*O*-acetil-1-tio- α -D-manopiranozida (85)

C3 $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{O}_9\text{S}$
(anotat)

Cristi-C3-pur
exp1 s2pu1

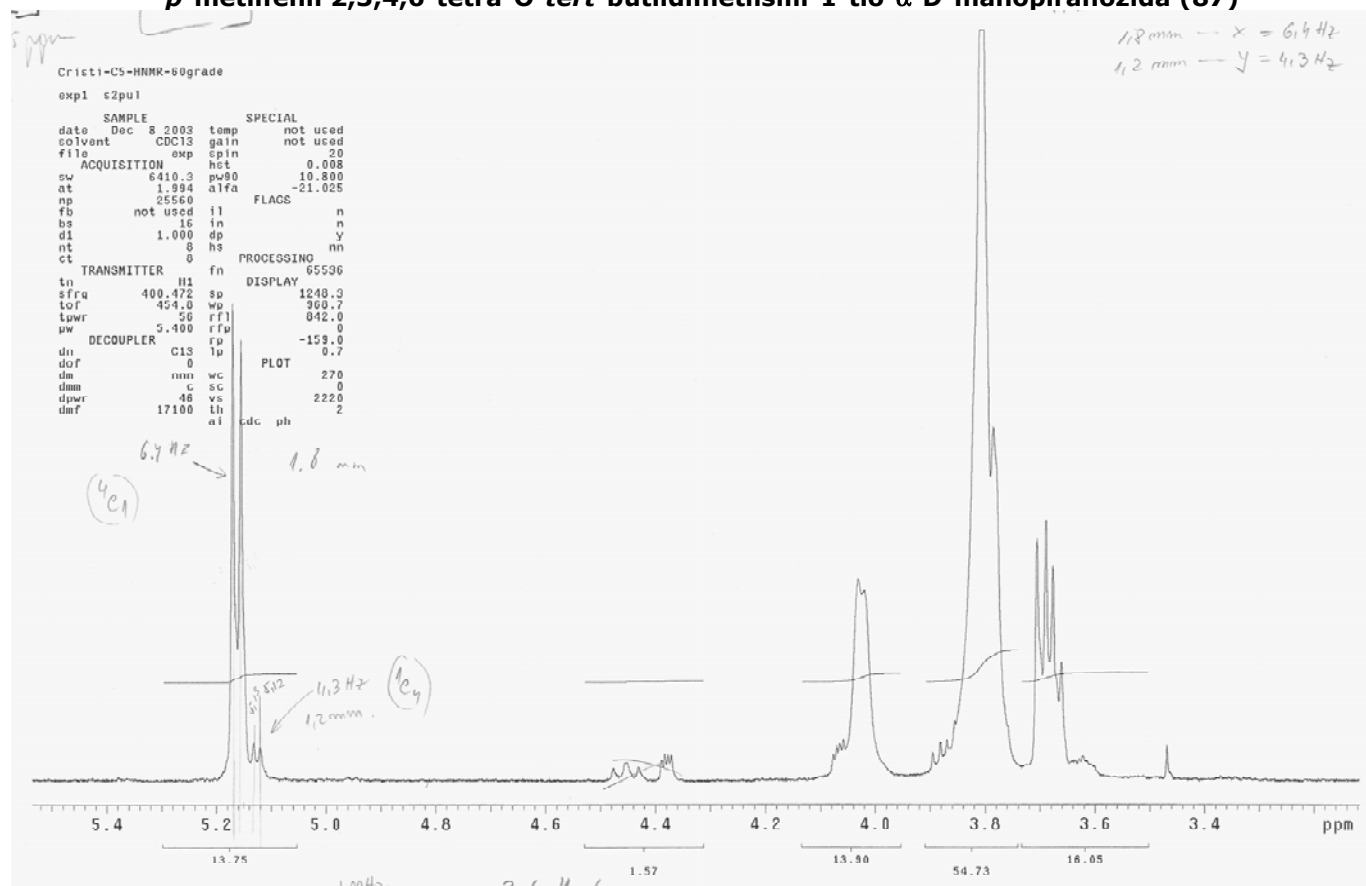
SAMPLE		SPECIAL	
date	Dec 4 2003	temp	26.0
solvent	CDCl ₃	gain	not used
file	exp	spin	2.0
ACQUISITION		SPECIAL	
sw	6410.3	hst	0.008
at	1.394	pw90	10.800
np	25560	alpha	-21.025
fb	not used	l1	n
bs	10	l2	n
d1	1.000	dp	y
nt	8	hs	nn
ct	0		
TRANSMITTER		PROCESSING	
tn	H1	fn	65536
sfrq	400.472	sp	232.0
tof	454.8	wp	2941.2
tpwr	50	rfl	802.3
pw	5.490	rff	0
DECOUPLER		PLOT	
dn	C13	rp	79.3
dof	0	lp	35.9
dm	nnn	wc	270
dma	c	sc	0
dpwr	46	vs	585
dmf	17100	th	50
	al	cdc	ph



[illegible]

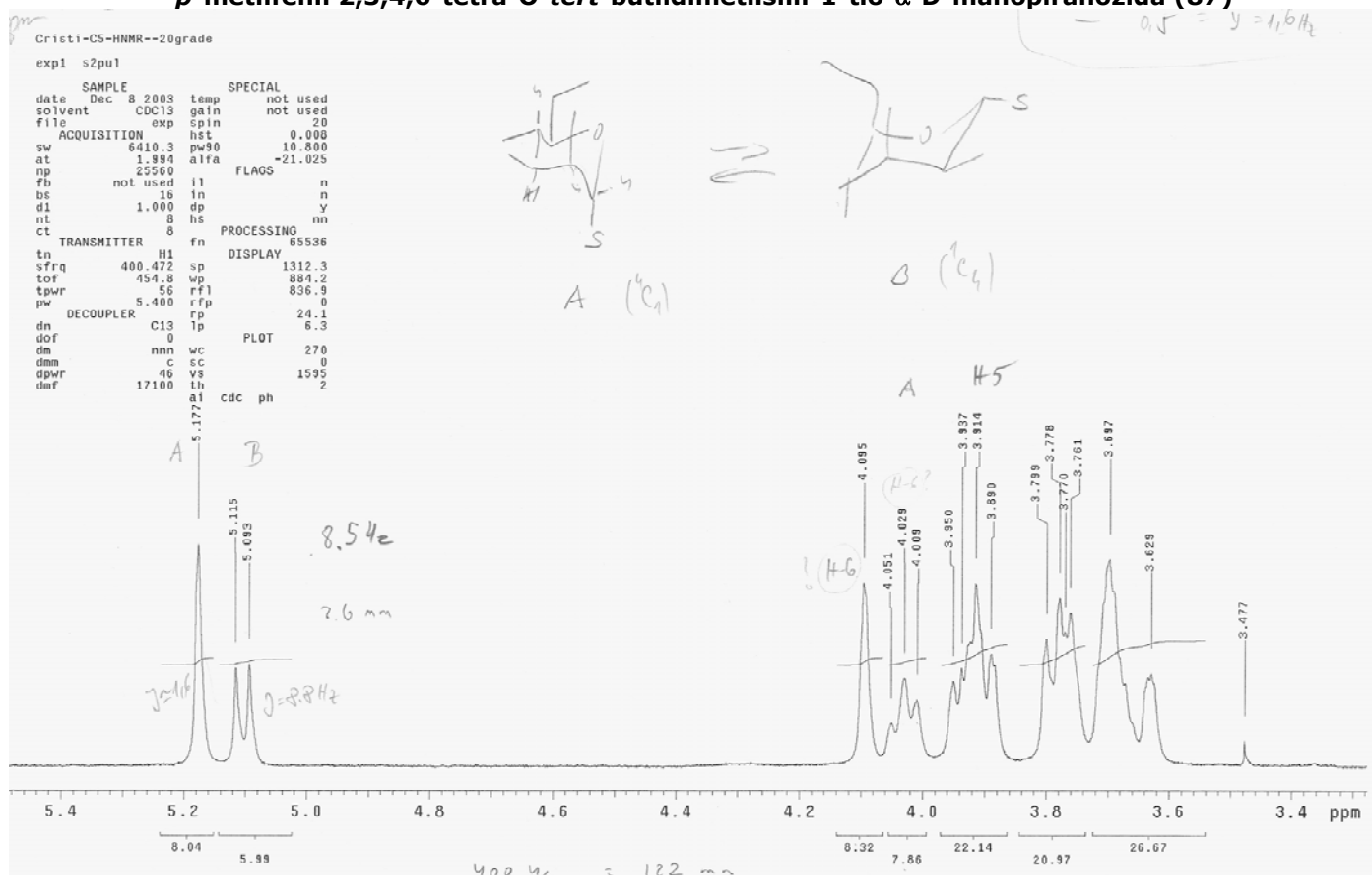
ANEXA 4: ^1H -RMN (+60°C)

p-metilfenil 2,3,4,6-tetra-*O*-*tert*-butildimetilsilil-1-tio- α -D-manopiranozida (87)



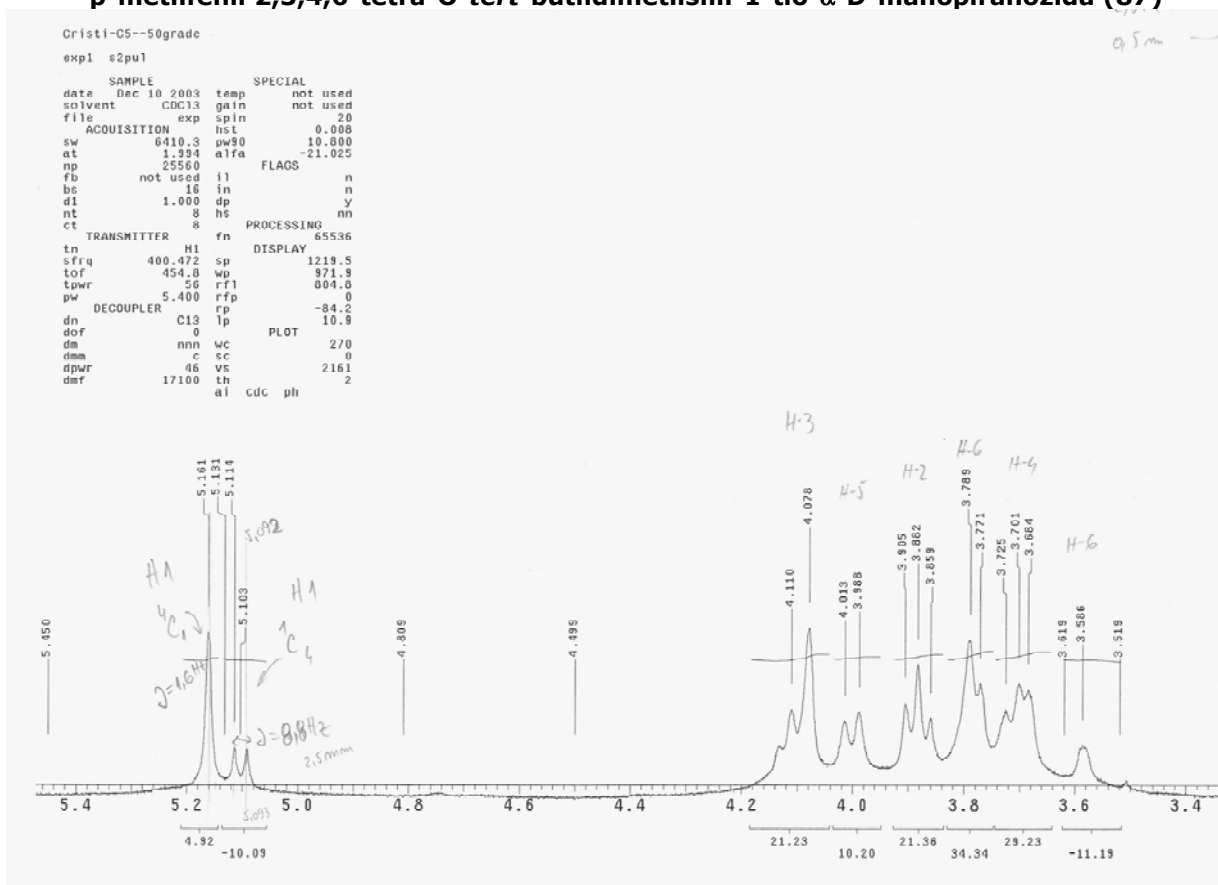
ANEXA 5: ^1H -RMN (-20°C)

p-metilfenil 2,3,4,6-tetra-*O*-*tert*-butildimetilsilil-1-tio- α -D-manopiranozida (87)

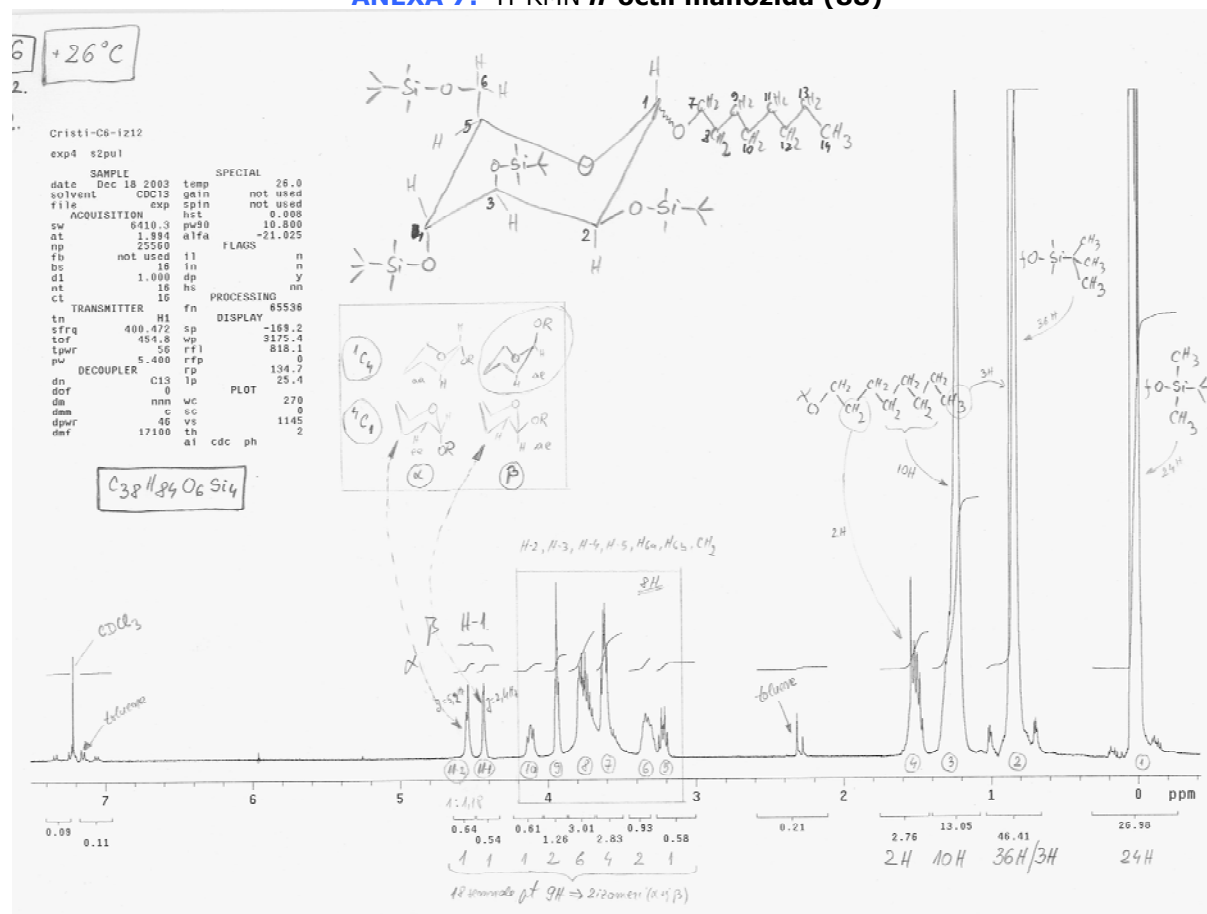


ANEXA 6: ^1H -RMN (-50°C)

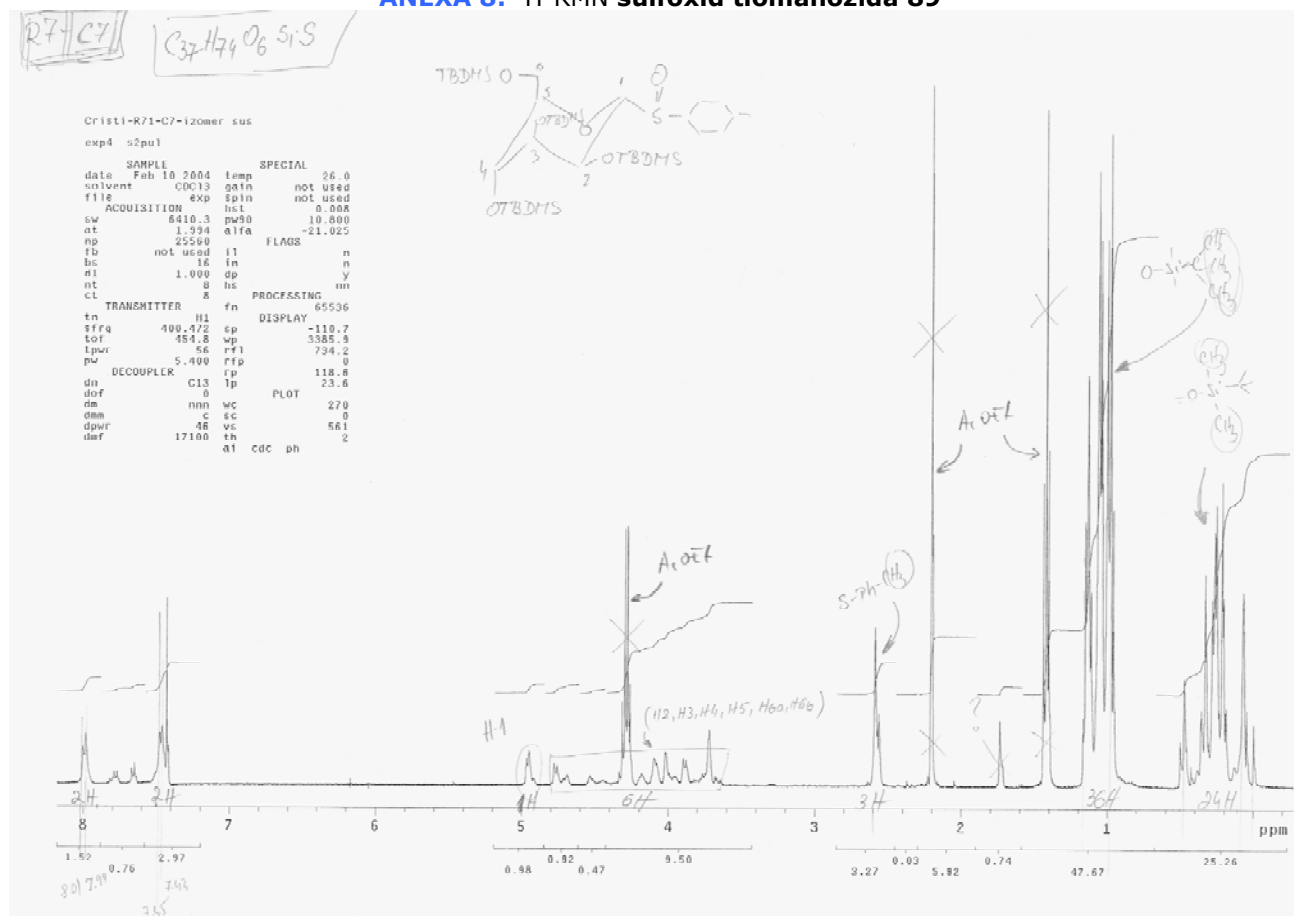
p-metilfenil 2,3,4,6-tetra-O-*tert*-butildimetilsilil-1-tio- α -D-manopiranozida (87)



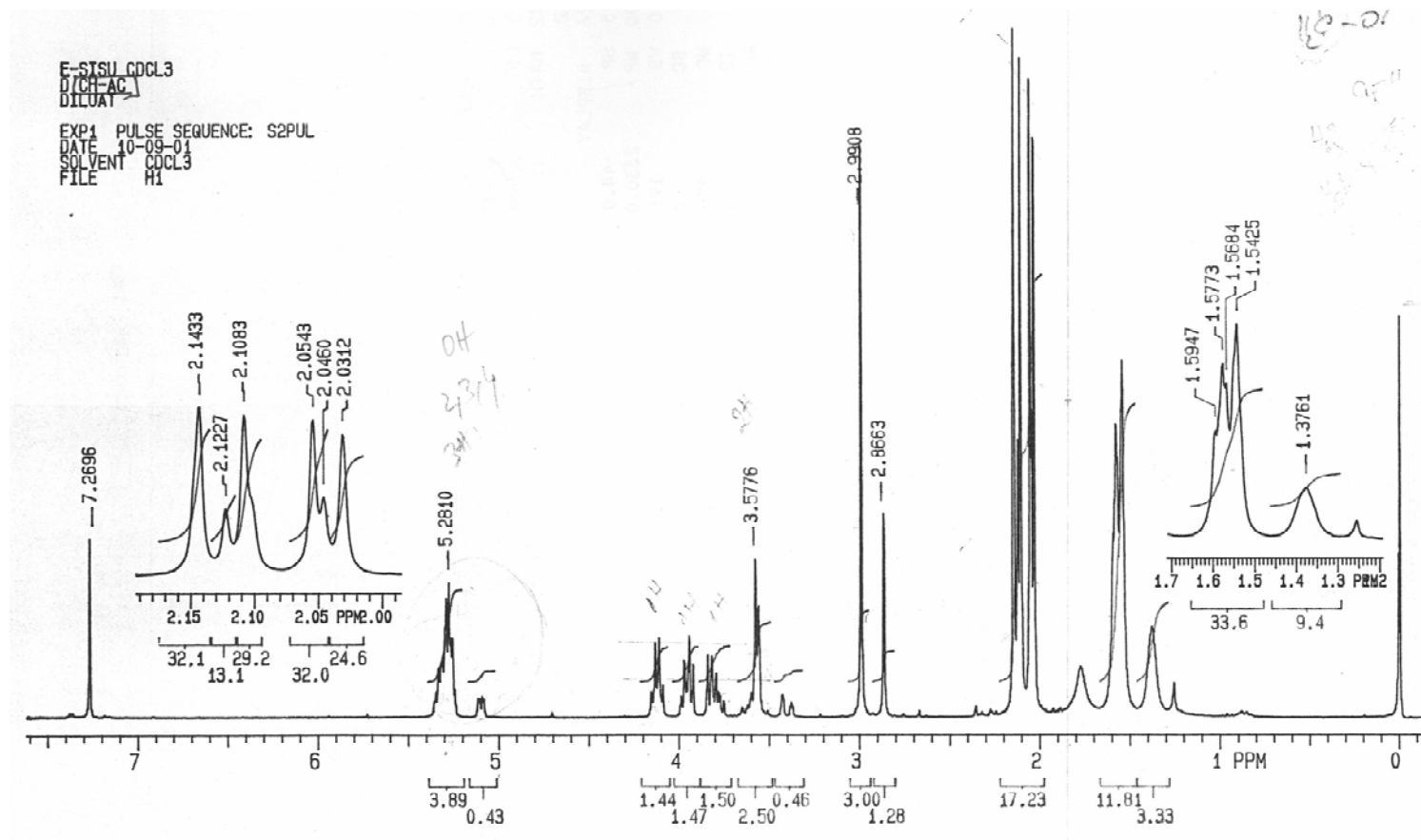
ANEXA 7: ¹H-RMN *n*-octil manozida (88)



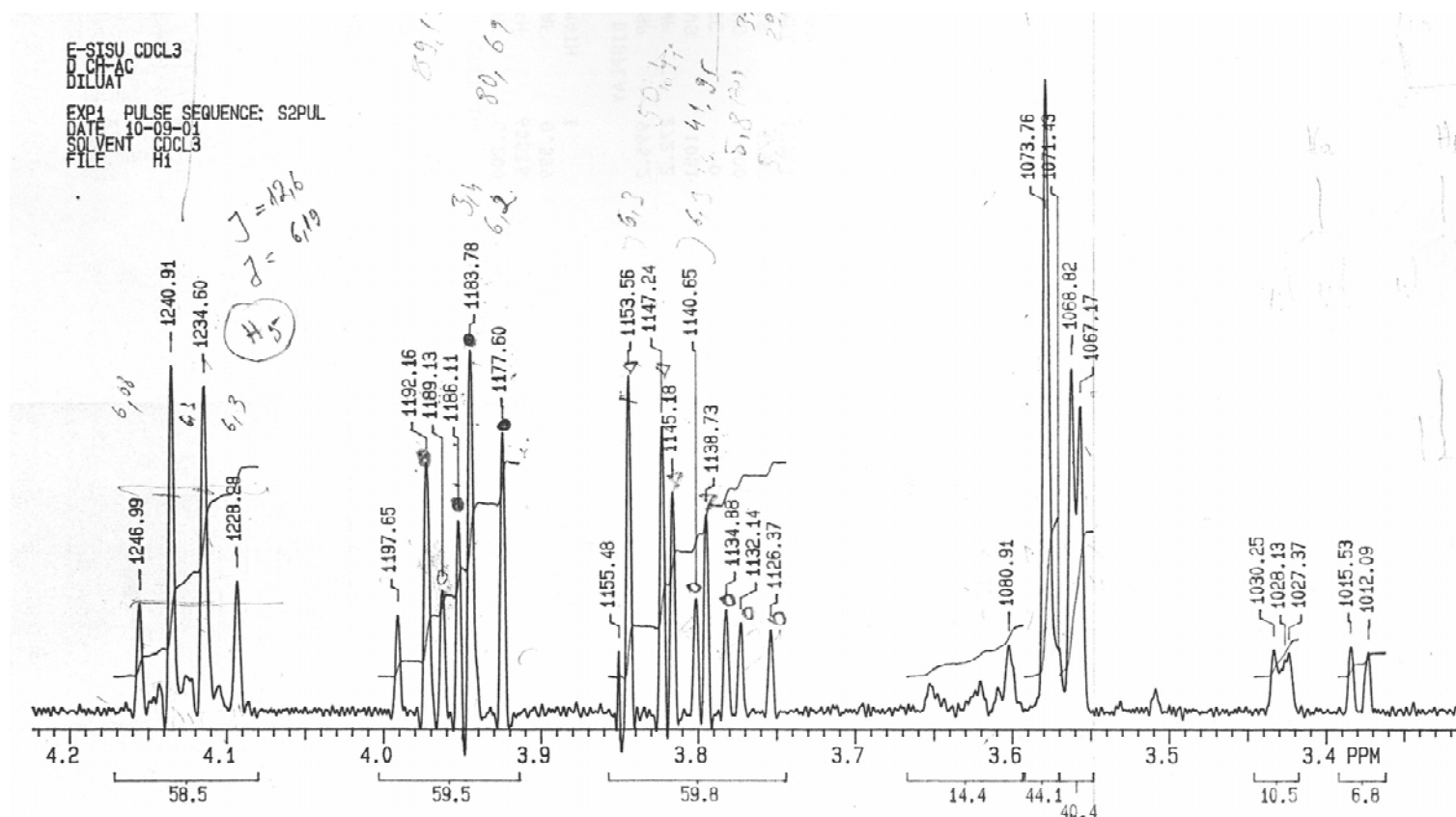
ANEXA 8: ¹H-RMN sulfoxid tiomanozida 89



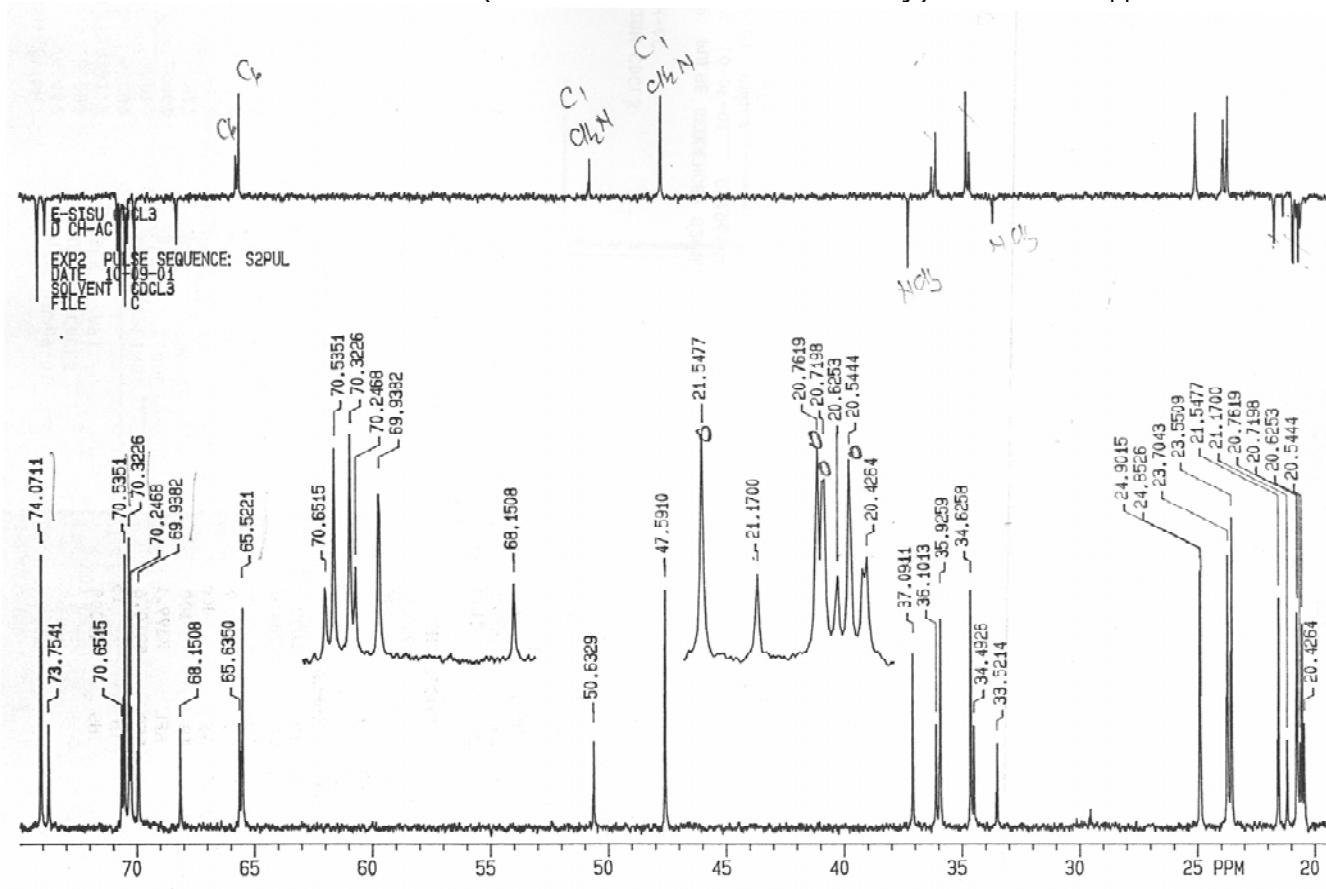
ANEXA 9: ^1H -RMN (Diciclohexiliden acetali acetilați)



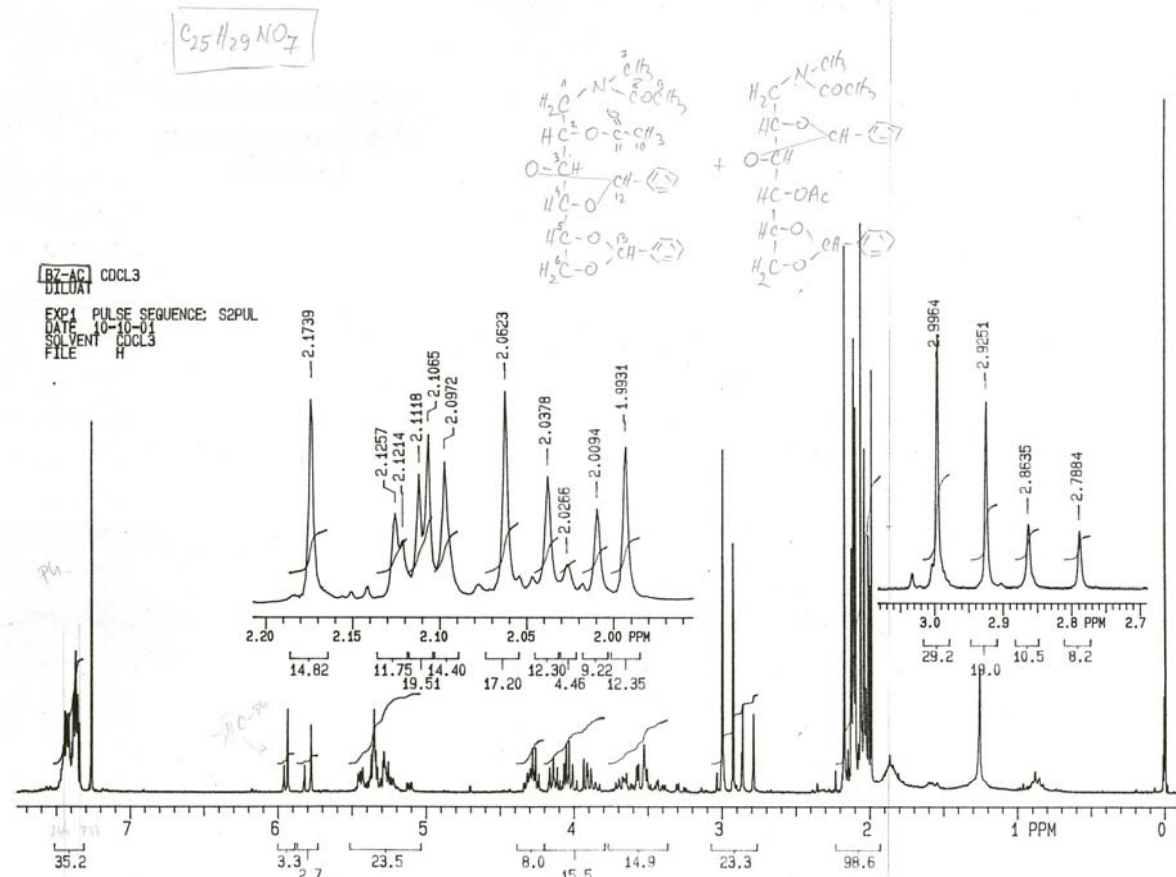
ANEXA 10: ^1H -RMN (Diciclohexiliden acetal acetilati) detaliu 3.3-4.2 ppm



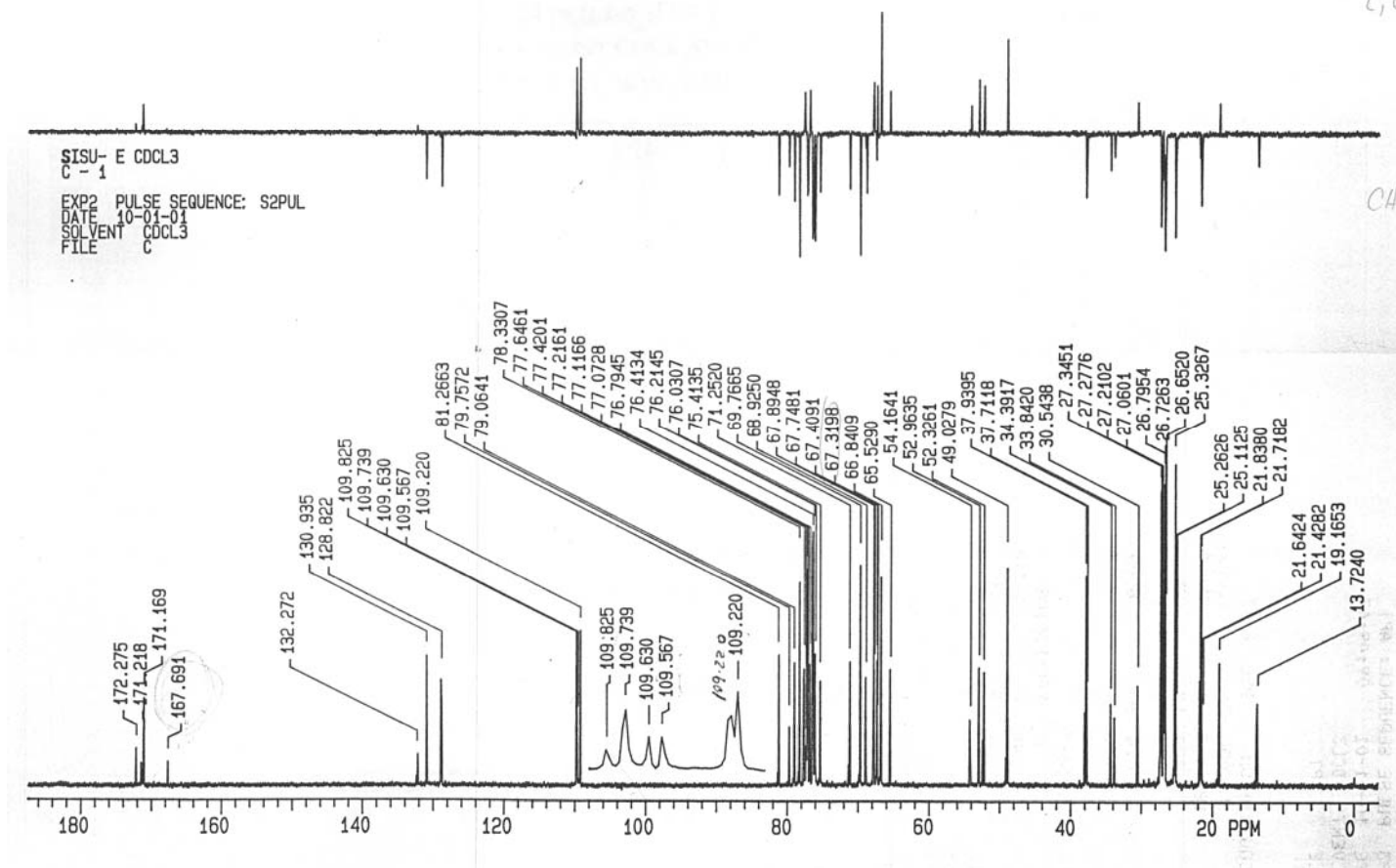
ANEXA 11: ^{13}C -RMN (Diciclohexiliden acetal acetilați) detaliu 20-70 ppm



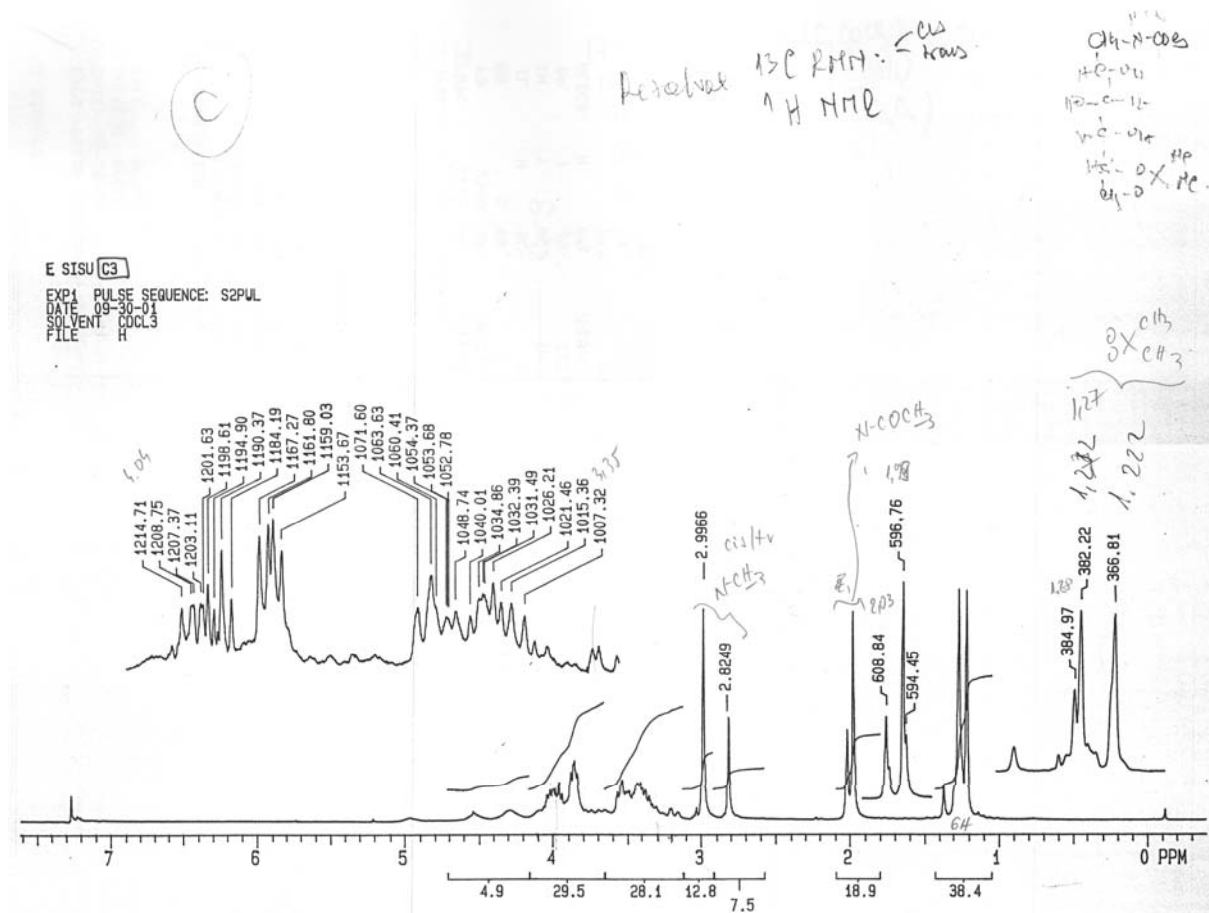
ANEXA 12: ^1H -RMN (Dibenziliden acetal acetilati)



ANEXA 13: ^{13}C -RMN Izopropiliden Acetali **spotul 1** din **Figura 3-12**



ANEXA 14: ^1H -RMN Izopropiliden Acetali **spotul 3** din **Figura 3-12**



ANEXA 15: ^{13}C -RMN Benziliden Acetal **spotul 2** din **Figura 3-16**

