

**CONTRIBUȚII LA STUDIUL REACȚIILOR LA CENTRUL  
ANOMERIC AL MONOZAHARIDELOR**

**Teză destinată obținerii titlului științific de doctor la Universitatea „Politehnica”  
din Timișoara în domeniul CHIMIE de către**

**Ing. Anca LASCU**

**Conducător științific: Prof. Dr. Ing. Alfa Xenia LUPEA**

## Cuvânt înainte

De ce zaharide?

Pentru că reprezintă cele mai abundente biomolecule de pe planetă. Toată lumea știe că zahărul este alcătuit din două unități de monozaharide unite printr-o legătură glicozidică, se învață la liceu. Și copiii știu că hârtia este alcătuită din celuloză, care reprezintă o polizaharidă naturală sintetizată de plante. Pe ambalajul tuturor alimentelor se specifică conținutul în glucide, deci toate persoanele ce vor să-și mențină silueta știu că acestea au o importanță mare în alimentație.

Ceea ce știu însă în plus cei implicați în sănătatea umană, este că ele alcătuiesc de asemenea un domeniu larg de studiu, mai ales datorită interacțiunilor dintre carbohidrați și proteine, interacțiuni de importanță majoră în farmacologie și medicină. Implicarea acestor molecule în fenomenele de recunoaștere intercelulară, de fixare a bacteriilor, virusurilor și toxinelor pe suprafața celulară a fost abia recent dezvăluită și înțeleasă, iar cunoașterea detaliată a structurii, conformației și proprietăților moleculelor de carbohidrați ar oferi cheia spre elaborarea de noi vaccinuri și medicamente. Importanța unor astfel de argumente ar trebui să fie suficientă pentru a explica întrebarea de mai sus.

Prezenta teză nu are pretenția de a fi o piatră de hotar în istoria sintezelor de carbohidrați, având un scop mai modest, anume acela de a împărtăși sinteza de noi compuși de natură glicozidică, ce ar putea contribui la îmbogățirea cunoștințelor despre acest vast domeniu.

**ACEASTĂ TEZĂ O DEDIC MEMORIEI TATĂLUI MEU  
ing. CĂLIN PAVELESCU,  
PENTRU BUCURIA DE A-I FI FIICĂ**

## CURPINS

Cuvânt înainte .....	2
Abrevieri folosite.....	8
Echipamente și materiale.....	10
Lista anexelor.....	12
INTRODUCERE.....	14
<b>PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTINȚELOR ÎN DOMENIU</b>	
<b>CAPITOLUL I. ASPECTE TEORETICE</b>	
I.1. GLICOZIDE.....	14
I.1.1. Definiție.....	14
I.1.2. Clasificare.....	16
A. O-glicozide.....	16
B. N-glicozide.....	16
C. C-glicozide.....	17
D. S-glicozide.....	17
E. Alte tipuri de glicozide.....	18
I.1.3. Aspecte importante privind formarea legăturii glicozidice.....	19
A. Mecanismul reacției de glicozilare.....	19
B. Influența solventului asupra perechii de ioni.....	20
C. Influența substituentului în poziția C2.....	20
D. Influența tipului de grupare protectoare. Conceptul activat/dezactivat.....	21
E. Influența prin „control torsional”.....	22
F. Conceptul „latent/activ”.....	22
G. Influența activării acceptorului de glicozil.....	23
H. Controlul prin conceptul de ortogonalitate.....	23
I. Selectivitatea reciprocă donor/acceptor.....	24
I.2. METODE DE OBȚINERE A O-GLICOZIDELOR.....	25
I.2.1. Metode clasice de obținere.....	25
A. Metoda Fischer-Helferich.....	25
B. Metoda Koenigs-Knorr.....	25
I.2.2. Metode moderne de O-glicozilare.....	25
A. Metoda cu fluoruri de glicozil.....	25
B. Metoda cu O-acil zaharuri.....	25
C. Metoda cu ortoesteri.....	26
D. Metoda cu tricloracetimidat.....	26
E. Metoda cu n-pentenil glicozide.....	27
F. Metoda cu fosfiți de glicozil.....	27
G. Metoda cu glicali.....	27
I.3. TIOGLEICOZIDE.....	28
I.3.1. Metode de obținere.....	28
A. Reacția între halogenuri de glicozil acilate și anionul tiolat.....	28
B. Reacția aldozelor acilate cu tioli în prezența unui acid Lewis.....	28
C. Reacția halogenurilor de glicozil acilate cu intermediari tiouree.....	29
D. Reacția între o 1-tioaldoză și o halogenură de alchil.....	29
E. Reacția tiocianaților de glicozil cu reactivi Grignard.....	29
F. Reacția 1-tioaldozelor cu săruri de arildiazoniu.....	30
G. Adiția radicalică de 1-tioaldoze la alchene.....	30

H. Descompunerea xantaților de glicozil.....	30
I. Hidroliza parțială a ditioacetalilor.....	31
J. O modificare a metodei Suzuki.....	32
I.3.2. Utilizări ale tioglicozidelor.....	32
A. Tioglicozide ca donori de glicozil.....	32
B. Tioglicozide ca acceptori de glicozil.....	35
C. Tioglicozide în secvențe de protejare-deprotejare.....	35
I.4. Bibliografie.....	37

### **PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII ORIGINALE**

#### **CAPITOLUL II. OBȚINEREA DE TIOGLICOZIDE ALE 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR-5-SUBSTITUIȚI**

II.1. Tioglicozide ale mercapto-heterociclurilor cu azot.....	40
II.1.1. Tioglicozide ale mercapto-heterociclurilor cu azot în seria piranozică.....	40
II.1.1. Tioglicozide ale mercapto-heterociclurilor cu azot în seria furanozică.....	47
II.2. PARTE EXPERIMENTALĂ.....	50
II.2.1. Caracteristici ale S-glicozidelor protejate sintetizate.....	52
II.2.2. Argumente privind structura compușilor sintetizați.....	58
A. Argumente chimice în favoarea formării S-glicozidelor.....	58
B. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie IR.....	59
C. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie UV.....	59
D. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie RMN.....	59
E. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie MS.....	61
II.2.3. S-glicozide deprotejate sintetizate deprotejate.....	62
II.2.4. Argumente privind structura compușilor sintetizați.....	68
A. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie IR.....	68
B. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie UV.....	68
C. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie RMN.....	69
D. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie MS.....	70
II.2.5. CONCLUZII.....	77
II.2.6. BIBLIOGRAFIE.....	79

#### **CAPITOLUL III. OBȚINEREA DE GLICOZILSULFONE ALE 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR 5-SUBSTITUIȚI**

III.1. POSIBILITĂȚI DE OBȚINERE A SULFONELOR DIN TIOETERI PRIN OXIDARE.....	82
III.1.1. Oxidare cu dioxirani.....	82
III.1.2. Oxidare cu apă oxigenată.....	82
A. Compuși ai molibdenului cu rol catalitic.....	83
B. Săruri de mangan(II).....	85
C. Complecși de wolfram.....	85
D. Catalizator pe bază de tantal.....	86
III.1.3. Oxidări cu agenți de oxidare clasici.....	87
A. Oxidări cu $\text{KMnO}_4$ /acid acetic.....	87
B. Oxidări cu $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ în fază solidă.....	87
III.1.4. Oxidare cu oxone.....	87
III.1.5. Oxidare cu $\text{NaBO}_3$ , $\text{NaCO}_3$ .....	88
III.1.6. Oxidare cu monoperoxifalat de magneziu (MMPP).....	89
III.1.7. Oxidare cu acid periodic ( $\text{H}_5\text{IO}_6$ ) și catalizator binuclear pe bază de mangan.....	89
A. Oxidare cu $\text{H}_5\text{IO}_6$ la microunde.....	89
III.1.8. Alți agenți de oxidare.....	90

III.2. POSIBILITĂȚI DE OBȚINERE A GLICOZILSULFONELOR PRIN OXIDAREA TIOGLICOZIDELOR .....	91
III.2.1. Oxidare cu $\text{NaIO}_4$ .....	91
III.2.2. Oxidare cu $\text{KMnO}_4$ .....	91
A. Oxidare cu permanganat de potasiu în mediu acid.....	91
B. Oxidare cu permanganat de potasiu în mediu neutru.....	91
III.2.3. Oxidare cu acid metacloroperoxibenzoic (m-CPBA).....	92
III.2.4. Oxidare cu oxone.....	94
III.2.5. Oxidare cu bis(monoperoxifitalat) de magneziu MMPP.....	94
III.2.6. Oxidare cu $\text{HOF} \cdot \text{CH}_3\text{CN}$ .....	94
III.3. PARTE EXPERIMENTALĂ. STUDIUL REACȚIEI DE OXIDARE A TIOGLICOZIDELOR LA SULFONE PE COMPUȘI MODEL.....	96
III.3.1. Sinteza sintonilor S-glicozilați.....	96
III.3.2. Elemente de strategie a sintezei sintonilor 1A-3A.....	96
A. Sinteza compusului 1A.....	97
B. Sinteza compușilor 2A și 3A.....	98
C. Sinteza compusului 4A.....	102
D. Sinteza derivaților acetilați 2A' și 3A'.....	103
III.3.3. Oxidarea tioglicozidelor la sulfonele corespunzătoare.....	104
III.4. ÎNCERCĂRI PRELIMINARE DE OXIDARE PE S-GLICOZIDELE MERCAPTOTRIAZOLILOR.....	106
III.4.1. Oxidare cu periodat de sodiu.....	106
A. Încercări de acilare a nucleului triazolic din S-glicozide.....	107
B. Încercări de alchilare prin reacția de aminare reductivă a ciclului triazolic.....	110
III.4.2. Oxidare cu oxonă.....	111
III.4.3. Oxidări cu apă oxigenată.....	113
A. apă oxigenată și heptamolibdat de amoniu.....	113
B. Apă oxigenată, activator și catalizator.....	114
III.5. OXIDAREA TIOGLICOZIDELOR MERCAPTOTRIAZOLILOR.....	117
III.5.1. oxidare cu m-CPBA.....	117
III.5.2. Oxidare cu $\text{KMnO}_4$ în acid acetic.....	118
III.5.3. Oxidare cu $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .....	118
III.6. SULFONE PROTEJATE ALE S-GLICOZIDELOR 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR-5-SUBSTITUIȚI SINTETIZATE.....	120
III.6.1. Argumente privind structura compușilor sintetizați.....	125
A. Argumentarea structurii sulfonelor protejate prin spectroscopie IR.....	125
B. Argumentarea structurii sulfonelor protejate prin spectroscopie UV .....	125
C. Argumentarea structurii sulfonelor protejate prin spectroscopie RMN .....	126
III.7. SULFONE DEPROTEJATE ALE GLICOZIDELOR S-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR SINTETIZAȚI.....	127
III.7.1. Argumente privind structura compușilor sintetizați.....	131
A. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate prin spectroscopie IR .....	131
B. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate prin spectroscopie UV.....	132
C. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate prin spectroscopie RMN .....	132
D. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate prin spectroscopie MS.....	133
III.8. CONCLUZII.....	142
III.9. BIBLIOGRAFIE.....	144

## **CAPITOLUL IV: TESTAREA ACTIVITĂȚII BIOLOGICE A GLICOZIDELOR S-MERCAPTOTRIAZOLILOR SUBSTITUIȚI**

IV.1 TRIAZOLI ȘI CONGENERI CU ACTIVITATE BIOLOGICĂ.....	148
IV.2. S-GLICOZIDE AVÂND CA AGLICONI TRIAZOLI SUBSTITUIȚI ȘI CONGENERII LOR	
IV.2.1. Activitate inhibitoare a enzimelor .....	150
IV.2.2. Modularea activității lectinelor.....	153
IV.2.3. Activitate antivirală.....	153
IV.2.4. Activitate antibacteriană.....	154
IV.2.5. Activitate antiinflamatoare.....	155
IV.2.4. Activitate antimicrobiană.....	155
IV.3. JUSTIFICAREA TESTĂRILOR BIOLOGICE EFECTUATE PE S-GLICOZIDELE 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR-5-SUBSTITUIȚI SINTETIZATE.....	156
IV.4. PARTE EXPERIMENTALĂ.....	160
IV.4.1. Metodologie.....	160
IV.4.2. Rezultate experimentale.....	167
A. Efectul exercitat de compușii BerGlu asupra celulelor de natură leucemică.....	167
B. Efectul exercitat de compușii BerGlu asupra celulelor mononucleare normale.....	169
C. Efectul exercitat de compușii BerGlu asupra celulelor aderente proliferative tumorale și normale.....	170
IV.5. CONCLUZII.....	173
IV.6. BIBLIOGRAFIE.....	174
<b>CONCLUZII GENERALE</b> .....	176
Lista publicațiilor.....	179
Anexe .....	182

## ABREVIERI FOLOSITE

Ac = acetil  
AcOH = acid acetic  
AcOEt = acetat de etil  
AgOTf = trifluorometansulfonat de argint  
AIBN = azobis(isobutironitril)  
Ac<sub>2</sub>O = anhidridă acetică  
Bn = benzil  
Bz = benzoil  
DMAP = 4,4-DMAP = 4,4-N,N-dimetilaminopiridină  
DMF = N,N-dimetilformamidă  
DMSO = dimetilsulfoxid  
DCM = diclormetan  
DMD = dimetildioxiran  
DMEM = Dilbecco/Vogt minimal essential medium, mediu de cultură celulară  
DMF = N,N-dimetilformamidă  
DMTST = triflat de dimetil(metiltio)sulfoniu  
ECACC = Colecția Europeană de Culturi Celulare  
EtOH = alcool etilic  
Et<sub>2</sub>O = eter etilic  
EDTA = acid etilendiaminotetraacetic  
IDCP = IDCClO<sub>4</sub> = perclorat de iodoniu dicolidină  
INT = clorură de 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-fenil tetrazoliu  
HUVEC = human umbilical venous endothelial cells, celule endoteliale din vena ombilicală umană  
LDA = diizopropilamida de litiu  
LDH = lactat dehidrogenază  
MCF 7 = Michigan Center Foundation, linie celulară de cancer de sân, izolată în 1970  
MeCOMe = acetonă  
MeOH = alcool metilic  
MeOTf = trifluorometansulfonat de metil  
mCPBA = acid metacloroperoxibenzoic  
MMPA = acid monoperoxiftalic  
MMPP = monoperoxiftalat de magneziu  
MTS = 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxi-fenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazolin  
MTX = metotrexat, acid (2S)-2-[(4-[(2,4-diamino-7,8-dihidropteridin-6-il)metil] (metil) amino) fenil]formamido]pentanedioic  
NADH = nicotinamidă adenină dinucleotidă  
NADPH = nicotinamidă adenină dinucleotidă fosfat  
NaOMe = metoxid de sodiu  
NIS = N-iodsuccinimidă  
NBS = N-bromsuccinimidă  
NOBF<sub>4</sub> = tetrafluoroborat de nitrozil  
PHA = fitohemaglutinină, lectina din fasole  
POPOP = 5-fenil-2[4-(5-fenil-1,3-oxazol-2-il)fenil]-1,3,oxazol  
PPO = 2,5-difeniloxazol  
Pyr = Py = piridină  
Ph = fenil



Pv = pivaloil  
RPMI1640 = Roswell Park Memorial Institute, mediu de cultură pentru celule  
Tol = toluen  
THF = tetrahidrofuran  
THTP = trifosfat de tiamină  
TBAHS = TBASA = tetrabutilamonihidrogensulfat  
TMSOTf = trifluorometansulfonat de trimetilsilil  
TBPA = Tris(4-bromophenyl)ammonium hexachloroantimonate  
TBABr = bromura de tetrabutilamoniu  
TBPBr = Bu<sub>4</sub>PBr = bromură de tetrabutilfosfoniu  
TsCl = clorură de toluensulfonil  
TfOH = acid trifluorometansulfonic  
U 937 = linie celulară de limfom histiocitic

## ECHIPAMENTE ȘI MATERIALE

Spectrele de proton au fost înregistrate pe un aparat Varian Gemini 300MHz sau Bruker 400 MHz. Spectrele RMN au fost executate în cadrul Departamentului de spectroscopie al Centrului de Chimie Organică C.D. Nenițescu București, prin amabilitatea șefului departamentului, dr. Miron Teodor Căproiu.

Spectrometria de masă s-a efectuat pe un aparat High Capacity Ion Trap (HCIT) Ultra PTM (Bruker Daltonik, Bremen, Germany). Spectrometrul de masă HCT este conectat printr-o interfață la un PC cu pachetul de programe integrate Compass (ce rulează sub WindowsXP), incluzând modulele EsquireControl and Hystar. Procesarea datelor achiziționate s-a realizat prin software-ul DataAnalysis. În toate cazurile, dacă nu s-a făcut o mențiune specială, probele au fost injectate în spectrometru cu ajutorul unei microseringi, atașată unui push-seringe cu o viteză de 250  $\mu$ l/h. S-a utilizat azot ca gaz nebulizator, la un flux de 5 l/min și la 7 p.s.i precum și o temperatură de desolvatare de 250 °C. Instrumentul a fost programat să opereze în mod ion negativ sau ion pozitiv, la un potențial ESI de 3.0 kV. Pentru analiză, proba a fost dizolvată în MeOH/H<sub>2</sub>O (1:1 v/v) până la o concentrație de 5-7 pmol/ $\mu$ L (soluție stoc) care s-a diluat după trebuință. Spectrele de masă au fost executate la Institutul de Chimie Timișoara, în cadrul laboratorului de chimie organică, prin amabilitatea CS I dr. Ilia Gheorghe.

Spectrele UV au fost înregistrate pe un spectrofotometru CECIL CE7200. Pentru analiză probele au fost dizolvate în MeOH absolut, obținându-se soluții având concentrația de  $3-8 \times 10^{-4}$  M. Spectrele UV au fost executate în cadrul Institutului de Chimie Timișoara, Laboratorul de chimie organică, prin amabilitatea doamnei CS I Făgădar-Cosma Eugenia.

Spectrele în infraroșu s-au înregistrat pe un aparat JASCO-FT/IR-4200 (single beam) în pastile de KBr, în cadrul Institutului de Chimie Timișoara, prin amabilitatea CS I Savii Cecilia.

Punctele de topire s-au efectuat pe un aparat Boetius S30A/G (Nagema).

### Reactivi și materiale

Bromura de benzil, acid camforsulfonic, hidrura de sodiu, benzaldehida dimetilacetal, DMF, LiAlH<sub>4</sub>, eter de petrol, 4,4-DMAP, Py, RuCl<sub>3</sub>, NaIO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CaCl<sub>2</sub>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, acidul 4-etoxibenzoic, tiosemicarbazida, hidroxidul de sodiu, permanganatul de potasiu, sulfatul de cupru (II) pentahidrat, glucoza, acidul 3-cloroperoxibenzoic (77%), anhidrida acetică, acetatul de sodiu, AlCl<sub>3</sub> și acetonitrilul au fost achiziționate de la Aldrich.

Complexul de trifluorură de bor eterată s-a achiziționat de la Merck Suchardt OHG. Amberlite IR-120 (16-45 mesh) provine de la Fluka Chemie GmbH.

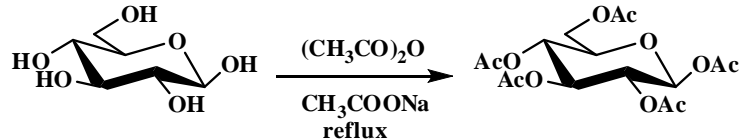
Metanolul, toluenul, clorura de metilen, cloroformul provin de la Chimopar (România).

1,2,3,4,6-penta-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranoza a fost sintetizată în laborator din glucoză și anhidridă acetică conform rețetei din literatură.

Cromatografia în strat subțire (CSS) s-a efectuat pe plăcuțe de alumină cu indicator de fluorescență Kieselgel (Merck, Darmstadt) F<sub>254</sub>. Separarea compușilor și a intermediarilor s-a efectuat prin cromatografie flash, folosind silicagel 230-400 mesh (Aldrich). Pentru monitorizarea reacțiilor cromatogramele se dezvoltă cu o soluție de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 20% în EtOH apoi se încălzesc la 120 °C timp de 1 min. Pentru separarea flash, plăcile de control au fost dezvoltate cu o soluție preparată (2.1 g molibdat de amoniu, 0.1 g sulfat de ceriu(II), 3.1 ml acid sulfuric conc., 47 ml apă), apoi au fost încălzite 1 min. la 120 °C.

Clorura de metilen folosită în reacții a fost distilată peste P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> în atmosferă de argon, iar acidul Lewis (BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O) utilizat în reacțiile de glicozilare a fost distilat proaspăt înainte de folosire.

**Rețeta preparării** 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- $\beta$ -D-glucoziranozei (după M. L. Wolfrom, A. Thompson: *Methods in Carbohydrate Chemistry*, Eds. R. L. Whistler, M. L. Wolfrom, Academic Press, N.Y., London, 1963, vol. II, pag. 212);



Într-un balon cu 2 gâturi prevăzut cu agitator și refrigerent se dizolvă sub agitare 5 g acetat de sodiu anhidru în 70 ml anhidridă acetică. Se aduce masa la fierbere, și sub agitare se adaugă în porțiuni mici 1 g  $\beta$ -D-glucoză. Masa de reacție fierbe datorită efectului exoterm. Se adaugă în porțiuni încă 9 g  $\beta$ -D-glucoză sub agitare continuă. După terminarea adaosului de glucoză, masa se lasă 5 minute la reflux. Se efectuează control CSS ( $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O} = 65:35:5$ ) pentru a verifica consumarea totală a glucozei de start, apoi se răcește masa de reacție și se toarnă peste 200 g gheață mărunțită. După 3 ore materialul cristalin se filtrează și se spală cu apă rece. Se recrystalizează pentru purificare din EtOH 95% fierbinte și se filtrează la cald. Randament 83%. Dacă se lasă filtratul etanolic la rece, se obține al doilea crop de cristale, de data aceasta de 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- $\alpha$ -D-glucoziranoză.

P.t. ( $\beta$ ) = 130 °C lit. = 132 °C, P.t. ( $\alpha$ ) = 124-128 °C.

$^1\text{H-RMN}(\text{CDCl}_3)$ : 7.5-7.2 (m, 5H, SPh); 5.2 (dd, 1H,  $J_{3,2}=J_{3,4}=9\text{Hz}$ , H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H,  $J_{4,5}=J_{4,3}=9\text{Hz}$ , H<sub>4</sub>); 4.94 (dd, 1H,  $J_{2,1}=9.1\text{Hz}$ , H<sub>2</sub>); 4.7 (d, 1H, H<sub>1</sub>); 4.22 (dd, 1H,  $J_{6a,6b}=12.1\text{Hz}$ ,  $J_{6a,5}=4.8\text{Hz}$ , H<sub>6a</sub>); 4.16 (dd, 1H,  $J_{6b,5}=2.8\text{Hz}$ , H<sub>6b</sub>); 3.71 (ddd, 1H,  $J_{5,4}=9\text{Hz}$ ,  $J_{5,6b}=2.8\text{Hz}$ ,  $J_{5,6a}=4.8\text{Hz}$ , H<sub>5</sub>); 2.1-2.0 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO)

## LISTA ANEXELOR

- Anexa 1 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber1Glu
- Anexa 2 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber2Glu
- Anexa 3 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber3Glu
- Anexa 4 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber4Glu
- Anexa 5 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber7Glu
- Anexa 6 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber9Glu
- Anexa 7 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber12Glu
- Anexa 8 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber13Glu
- Anexa 9 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber14Glu
- Anexa 10 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului Ber15Glu
- Anexa 11 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber1Glu
- Anexa 12 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber2Glu
- Anexa 13 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber3Glu
- Anexa 14 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber7Glu
- Anexa 15 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber9Glu
- Anexa 16 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber12Glu
- Anexa 17 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber13Glu
- Anexa 18 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber14Glu
- Anexa 19 – Spectrul MS<sup>2</sup> al compusului S-Ber15Glu
- Anexa 20– Spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber1Pag
- Anexa 21– Spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber1Pag
- Anexa 22– Detaliu spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber2Pag
- Anexa 23– Spectrul HMQC al compusului S-Ber2Pag
- Anexa 24 – Spectrul COSY al compusului S-Ber9Pag
- Anexa 25 – Spectrul HSQC al compusului S-Ber9Pag
- Anexa 26 – Spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber12Pag
- Anexa 27 – Detaliu spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber12Pag
- Anexa 28 – Spectrul HMQC al compusului S-Ber12Pag
- Anexa 29 – Spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber14Pag
- Anexa 30 – Detaliu spectrul <sup>1</sup>H-RMN al compusului S-Ber14Pag
- Anexa 31 – Spectrul COSY al compusului S-Ber14Pag
- Anexa 32 – Spectrul UV al compusului Ber1Pag
- Anexa 33 – Spectrul UV al compusului Ber4Pag
- Anexa 34, – Experimente efectuate în scopul trasării curbei de etalonare pentru standardul LDH al kitului Cytotox96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay
- Anexa 35 - Experimente efectuate în scopul trasării curbei de etalonare pentru standardul LDH al kitului Cytotox96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay (continuare)

## INTRODUCERE

Pe lângă rolul structural și ca sursă energetică, zaharidele sunt implicate într-o mare varietate de procese biologice, precum recunoașterea intercelulară, fertilizare, embriogeneză, dezvoltarea neuronală, activități hormonale, proliferarea celulară și organizarea lor în țesuturi specifice, infecții bacteriene și virale, chiar și în metastazele tumorale. Acest fapt nu este surprinzător, deoarece ele oferă un conținut informațional imens, datorită nenumăratelor combinații glicozidice posibile.

În același timp, dezvoltarea rapidă a tehnicilor de lucru și investigare structurală permit sinteza unor oligozaharide tot mai complexe, ce rivalizează cu cele naturale. Astfel potențialul extraordinar al structurilor glicozidice a fost pus în valoare prin elaborarea de tratamente și vaccinuri sintetice profilactice (de exemplu împotriva *Neisseria meningitides*, *S. Pneumoniae*, *Streptococcus B*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*) pe bază de carbohidrați.

Carbohidrații importanți din punct de vedere biologic există în natură sub formă de polizaharide sau de glicoconjugate complexe (glicolipide, glicopeptide, glicoproteine), în care unitățile monozaharidice sunt legate prin legături glicozidice. Aceste legături se realizează prin reacții de glicozilare. Deoarece noua legătură glicozidică generează un nou centru de chiralitate, trebuie acordată o atenție deosebită stereoselectivității acestor reacții. În mediul natural, această specificitate și stereoselectivitate este asigurată de enzime, dar sinteza chimică a acestui tip de molecule reprezintă o provocare față de sinteza altor biopolimeri naturali, precum proteinele și acizii nucleici.

Cercetarea ce a stat la baza acestei lucrări s-a axat pe formarea de legături glicozidice stereospecifice între o glicozidă și un mercaptotriazol, deoarece studiul literaturii a relevat importanța biologică a mercaptotriazolilor, în principal ca agenți antifungici, dar și antivirali și antitumorali. 3-Mercapto-1,2,4-triazolii substituiți în poziția 5 cu componente aromatice prezintă însă o hidrofobicitate pronunțată, ce limitează accesul lor în organism. Legarea lor de o componentă glicozidică hidrofilă ar putea facilita interacțiunea acestor molecule cu celulele vii. În baza acestui raționament au fost fixate principalele obiective ale lucrării de doctorat:

- Studiul sintezei de S-glucozide ale 3-mercapto-1,2,4-triazolilor-5-substituiți folosind o metodă nouă pentru această serie și optimizarea acesteia.
- Având în vedere numărul scăzut al articolelor din literatura de specialitate cu privire la activitatea biologică a glicozidelor mercapto-triazolilor-substituiți și a congenerilor (oxa- sau tia-), ne-am propus obținerea unor sulfone noi printr-o metodă clasică și optimizarea acesteia.
- Caracterizarea structurală a compușilor noi sintetizați prin metode spectrale moderne.
- Verificarea unor proprietăți biologice prin determinări *in vitro* ale compușilor deprotejați sintetizați

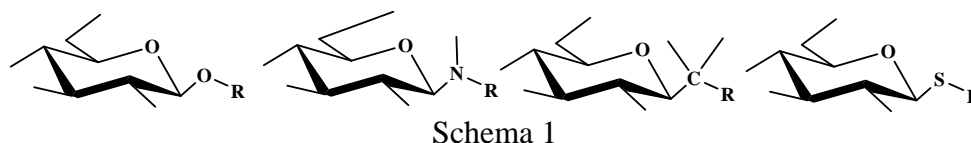
**PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CUNOȘTINȚELOR ÎN  
DOMENIU**

**CAPITOLUL I  
ASPECTE TEORETICE**

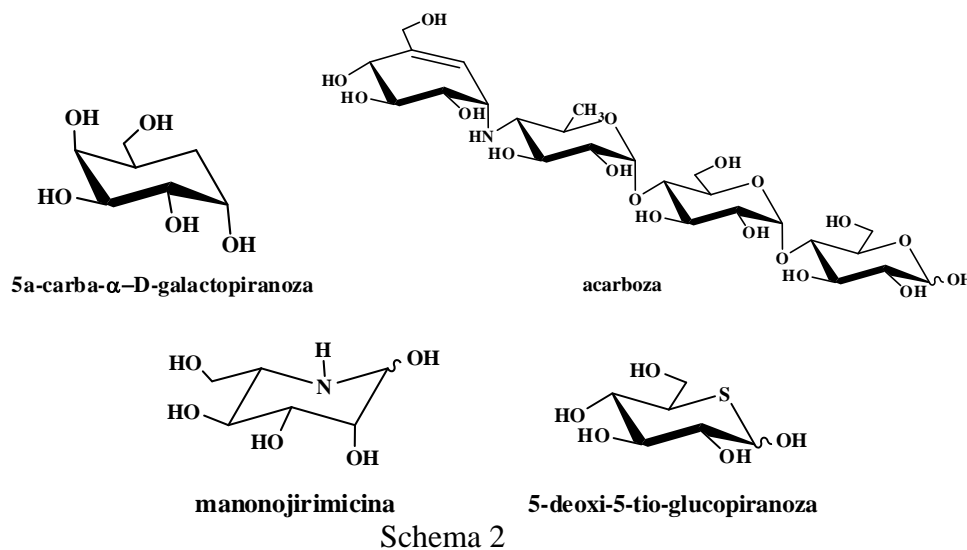
## I.1. GLICOZIDE

### I.1.1. Definiții

O glicozidă se formează atunci când atomul de carbon anomic al unui zahar se leagă prin intermediul unui heteroatom (cu excepția C-glicozidelor) de un fragment alifatic sau aromatic denumit aglicon. Se obțin astfel O-, N-, S- sau C-glicozide, care au formula generală de tipul (schema 1):



Acești compuși sunt diferiți ca structură și ca proprietăți prin raport cu carbazaharurile, iminozaharurile și tiozaharurile în care atomul de oxigen endociclic este înlocuit cu alt tip de atom: carbon (carbazaharuri), azot (iminozaharuri), sulf (tiozaharuri) (schema 2):



5a-carba-galactopiranoza a fost izolată din culturi fermentate de *Streptomyces sp.* MA-4145 la doar câțiva ani după ce a fost sintetizată chimic. Este singurul carbazahar natural, iar activitatea sa biologică este din păcate foarte scăzută [1].

Acarboza este o pseudotetrazaharidă ce prezintă activitate biologică, printre primii inhibitori de  $\alpha$ -glucozidaze folosiți în tratamentul *diabetes mellitus* independent de insulină la oameni [2].

Nojirimicina este un antibiotic ce apare în natură, produs de tulpinile de *Streptomyces*, dar este relativ instabilă [3].

Se presupune că 5-deoxi-5-tio-D-glucoza intervine în transportul celular al D-glucozei, în spermatogeneză și că este un agent anticancerigen eficient [4].

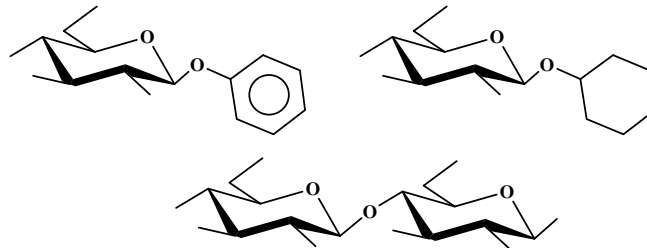
În chimia zaharurilor, glicozidele constituie un grup de substanțe de un interes aparte, nu numai din cauza dificultății cu care se sintetizează și caracterizează ci și datorită importanței lor în biochimie. De aici rezultă multiple aplicații în discipline esențiale precum industria farmaceutică, alimentară și în biotehnologie.

Biomolecule importante precum ADN-ul, ARN-ul, cofactori vitali precum ATP-ul și NAD-ul sunt alcătuite din structuri glicozidice. De asemenea, multe glicozide naturale și sintetice sunt folosite ca antibiotice și ca agenți antivirali și antineoplazici. Un număr mare de glicozide cromofore se folosesc în biologia moleculară ca substraturi pentru detectarea activității enzimaticе.

### I.1.2. Clasificarea glicozidelor:

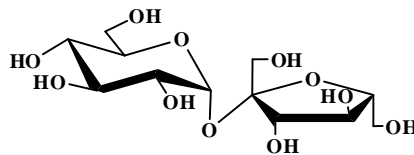
#### A. O-glicozide

Dacă o monozaharidă sau un fragment de zahar de orice mărime condensează cu un alcool aromatic sau cu unul alifatic, sau chiar cu o altă componentă de zahar, se formează o legătură glicozidică prin intermediul unui atom de oxigen. Glicozidele astfel formate se numesc O-glicozide, exemple generale fiind prezentate în schema 3:



Schema 3

Una din cele mai cunoscute O-glicozide prezente în natură este zaharoza (schema 4). Se găsește în aproape toate plantele, predominant în sfeclă, în trestia de zahăr și în boabele tinere de porumb.



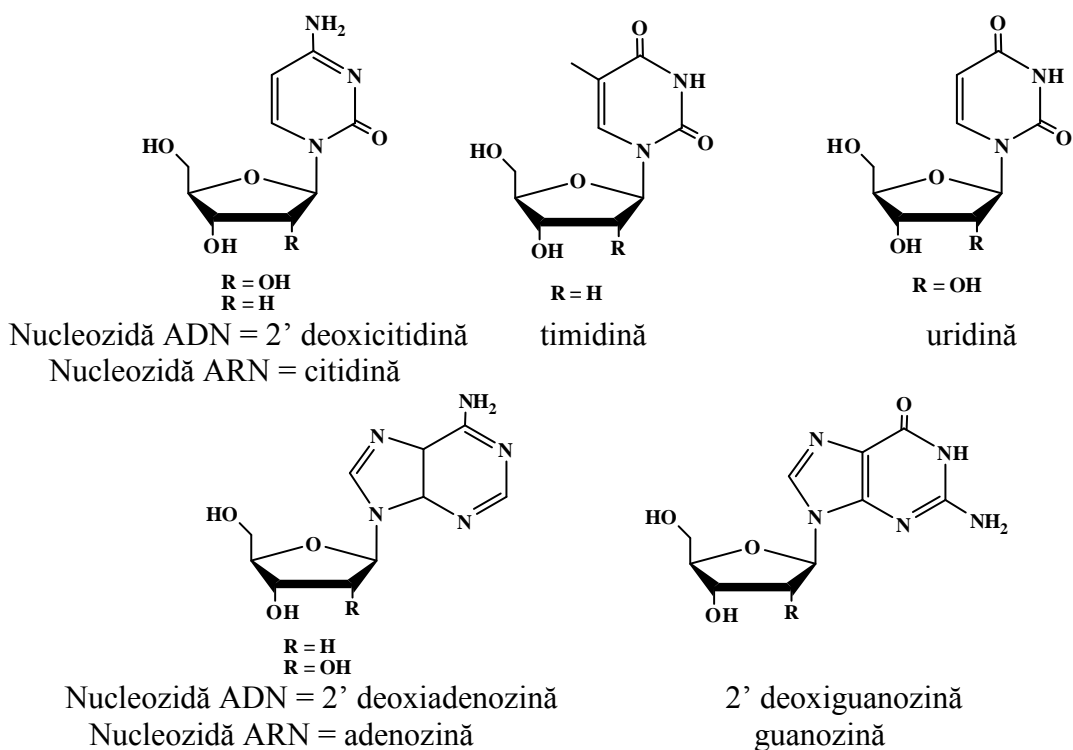
zaharoza  
Schema 4

#### B. N-glicozide

N-glicozide se formează dacă un zahar este atașat de un aglicon prin intermediul unui atom de azot, formându-se o legătură C-N-C. Dintre N-glicozide, cele mai importante sunt nucleozidele, deoarece reprezintă componente esențiale ale ADN-ului, ARN-ului și ale multor medicamente antivirale și anti-neoplazice.

De obicei o nucleozidă este formată dintr-o bază purinică sau pirimidinică legată de atomul de carbon anomic al unui ciclu furanozic. Bazele azotate ale nucleozidelor responsabile pentru formarea materialului genetic ADN și ARN sunt adenina, guanina, citidina timina și uracilul, ale căror structuri sunt redată în schema 5:

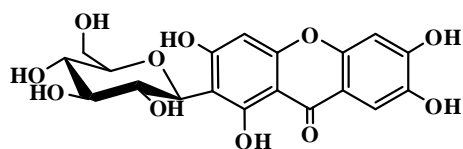




Schema 5

### C. C-glicozide

O C-glicozidă se formează când atomul de carbon anomic al unui zahar se leagă de aglicon, creând o nouă legătură C-C. Acest tip de glicozide s-au dovedit agenți terapeutici eficienți. Diferențele conformaționale față de O- sau N-glicozide sunt minime, dar C-glicozidele sunt rezistente la hidroliza enzimatică sau acidă, deoarece centrul anomic a fost modificat dintr-un acetal într-un eter [5]. Un exemplu de C-glicozidă naturală extrasă din plante este prezentat în schema 6:



C-glucozilxanton

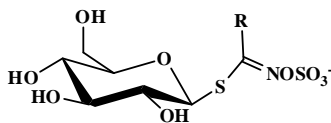
Schema 6

### D. S-glicozide sau tioglicozide

Înlocuirea atomului de oxigen anomic al unei glicozide cu un atom de sulf duce la obținerea 1-tioglicozidei respective.

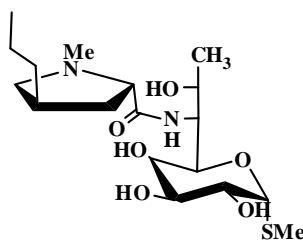
Glicozide complexe ale 1-tio-D-glucozei apar de obicei în glicozidele uleiului de muștar din familia de plante *Cruciferae*, *Capparidaceae* și *Resedaceae*; primul exemplu a fost izolat în 1831 [6] Glicozida *sinigrin* (schema 7) izolată din semințele de muștar negru [*Brassica nigra* (L.) Koch] și din rădăcina de hrean este semnificativă pentru acest grup de substanțe; este sarea de potasiu a unui acid (acid myronic) și este hidrolizată [7] sub acțiunea unei enzime numită myrosinaza [8], o tio-D-

glucozidază prezentă în celule speciale ale seminței, pentru a se obține D-glucoza, ionul bisulfat și un izocianat (în acest caz, alil izotiocianat).



R = alil  
Sinigrin  
Schema 7

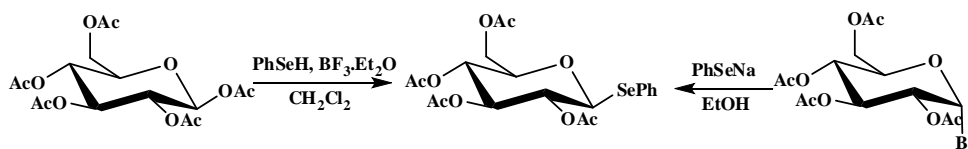
Cel mai notabil exemplu de tioglicozidă naturală este lincomicina (schema 8), cu efect antibacterian. Se folosește împotriva infecțiilor cu bacterii gram-pozitive și cu organisme anaerobe.



Lincomicină  
Schema 8

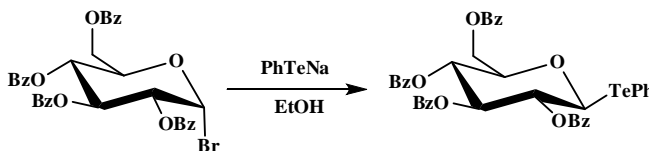
### E. Alte tipuri de glicozide: Seleno- și teluroglicoside [9]

Selenoglicozidele se prepară din carbohidrați modificați, anume un zahar protejat cu un acetat anomic este tratat cu un acid Lewis și cu un selenol, sau se tratează o halogenură de glicozil cu o seleniură de metal alcalin (schema 9):



Schema 9

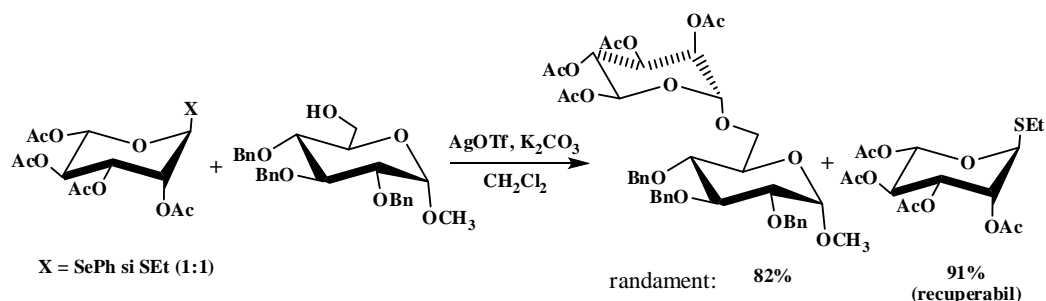
Teluroglicozidele se obțin în general prin tratarea unei halogenuri de glicozil cu o sare mixtă de telur și un metal alcalin (schema 10):



Schema 10

Atât seleno- cât și teluroglicozidele sunt în general solide cristaline stabile, ce pot fi activate în reacțiile de glicozilare pe post de donori de glicozil cu promotori blânzi de tipul: AgOTf, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; NIS; IDCClO<sub>4</sub>; NIS, TfOH [9].

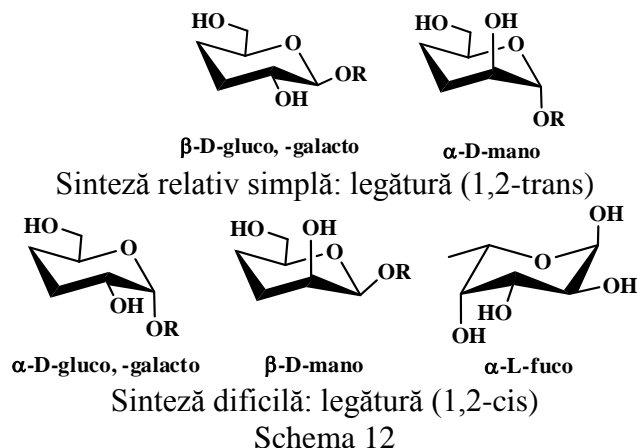
Această activare este chemoselectivă, teluroglicozidele fiind mai reactive față de selenoglicozide, iar acestea la rândul lor sunt mai reactive decât tioglicozidele. Datorită acestor proprietăți se pot realiza strategii complexe de sinteză de oligozaharide (schema 11):



Schema 11

### I.1.3. Aspecte importante privind formarea legăturii glicozidice

La formarea unei legături glicozidice, cea mai mare preocupare o constituie orientarea ei în spațiu. Astfel noul compus poate avea o conformație  $\alpha$  sau una  $\beta$ , funcție de mai multe criterii. Unul din acestea este orientarea grupării hidroxil din poziția C2 a donorului de glicozil. Din punctul de vedere al sintezei, scenariile posibile pentru ciclul piranozic sunt prezentate în schema 12:

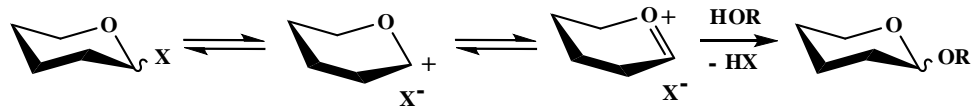


Schema 12

Pe lângă dificultatea obținerii unor astfel de compuși, trebuie ținut seama că gruparea hidroxil de la C2 trebuie să fie protejată în timpul etapei propriu-zise de glicozilare, altfel apărând posibilitatea unor reacții intra- și intermoleculare nedorite. Natura grupei protectoare a acestei funcțiuni hidroxil are un efect de maximă importanță asupra stereochemiei proaspăt introdusului aglicon de la C1.

### A. Mecanismul reacției de glicozilare

Majoritatea metodelor utilizate pentru formarea unei legături glicozidice au la bază un donor de glicozil ce poate forma un ion oxocarbeniu, sau cel puțin o specie ce conține o sarcină pozitivă semnificativă la atomul de carbon anomic (schema 13):

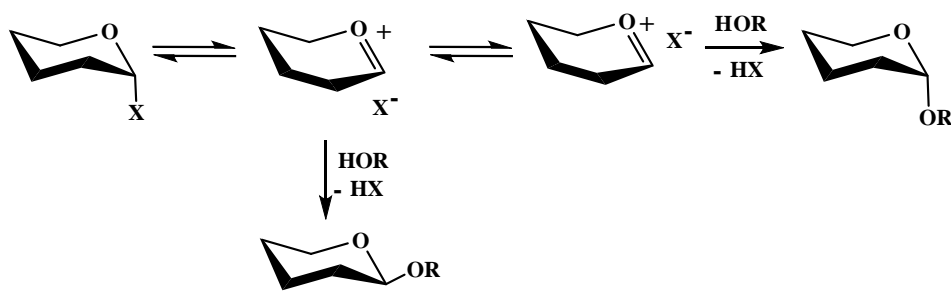


Schema 13

Ionii de oxocarbeniu intermediari sunt influențați de diverși factori ce stabilizează sau destabilizează astfel de specii cu viață scurtă și energie ridicată și pot de asemenea afecta nucleofilitatea acceptorului de glicozil, deci implicit reactivitatea acestuia. În cele ce urmează se vor prezenta unii dintre acești factori.

### B. Influența solventului asupra perechii de ioni

Ionizarea unui donor de glicozil la atomul de carbon anomic generează o “sare” care, funcție de solvent, poate avea caracteristica unei perechi de ioni în strâns contact sau a unei perechi de ioni separate prin intermediul solventului. Anionul din cadrul „sării” poate ecrana o față sau cealaltă a ionului oxocarbeniu în raport cu atacul acceptorului de glicozil (schema 14).



Schema 14

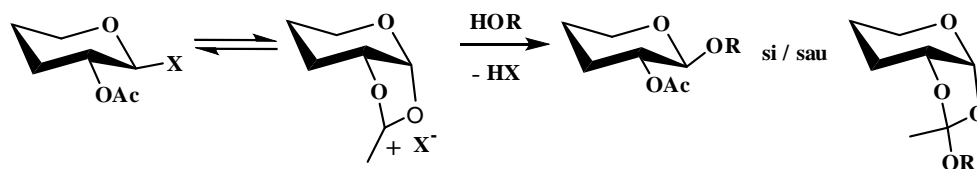
În acest caz, rolul solventului poate fi pasiv sau activ. Solvenții cu constantă dielectrică mare și solvenții cu o pereche de electroni neparticipantă (eter etilic sau tetrahidrofuran) pot stabiliza o sarcină pozitivă [10, 11]. Un alt solvent ce posedă caracteristici duale de polaritate și bazicitate moderată este acetonitrilul; multe din reacțiile de glicozilare efectuate în acest solvent pot fi explicate numai prin intervenția solventului în mecanismul reacției (schema 15):



Schema 15

### C. Influența substituentului din poziția C2

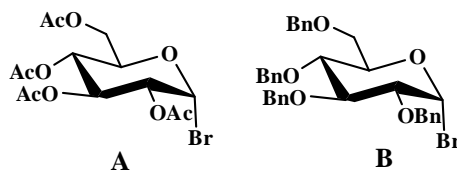
Substituentul din poziția C2 a donorului de glicozil este de obicei o grupare hidroxil funcționalizată (protejată). Cel mai des folosite grupe protectoare formează fie un eter (benzilic, 4-metoxibenzilic, sau sililic), fie un ester (acetic, benzoic sau pivalic(2,2-dimetilpropanoic)). Rolul unei grupări protectoare eterice este unic: reprezintă o grupare inertă ce asigură un anumit nivel de împiedicare sterică oricărui nucleofil ce atacă molecula (în acest caz acceptorul de glicozil). Pe de altă parte, o grupare esterică poate asigura un anumit grad de împiedicare sterică (este cazul mai ales pentru esterul acidului pivalic), dar poate de asemenea influența puternic stereochemia formării glicozidei. De asemenea se poate forma și un ortoester (schema 16):



Schema 16

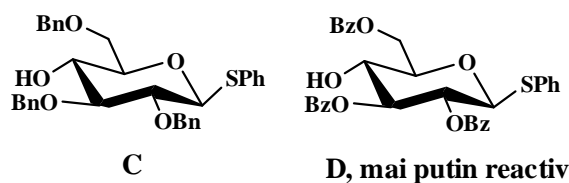
#### D. Influența tipului de grupare protectoare. Conceptul de „activat / dezactivat” (armed / disarmed)

Se știe că bromura de tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-glucopiranozil (**A** în schema 17) este un solid incolor, cristalin, ce poate fi depozitat la rece într-un mediu uscat și câteva luni. Pe de altă parte, bromura de tetra-O-benzil- $\alpha$ -D-glucopiranozil (**B** în schema 16) este un compus instabil, ce nu poate fi izolat sau purificat, ci se folosește prin generarea sa in situ.



Schema 17

Paulsen [12] a observat pentru prima dată această diferență de stabilitate între cei doi compuși, dar abia după câțiva ani Fraser-Reid a menționat în studiul său referitor la 4-pentenil-glicozide [13] pentru prima dată conceptul de „activat/dezactivat”, ce se bazează pe această diferență de stabilitate. Pe scurt, eterii benzilici sunt grupări pasive din punct de vedere electronic ce nu împiedică formarea unei sarcini pozitive în interiorul ciclului piranozic, dar mai ales la C1. Pe de altă parte, grupările acetat (mai ales dacă sunt localizate la C2) reprezintă grupări atrăgătoare de electroni, astfel defavorizând orice formare de sarcină pozitivă în cadrul ciclului (la C1). De aici rezultă că bromura benzilată poate fi „activată” iar contrapartida esterică este „dezactivată” după dorință. Și alte grupări funcționale pot fi manipulate în același fel [14]. Conceptul de „activat/dezactivat” poate fi aplicat și acceptorului de glicozil, dar într-o măsură mai mică, prin aceea că grupări pasive din punct de vedere electronic (de exemplu eterii, **C** în schema 17) vor avea un efect mai mic asupra nucleofilicității grupării hidroxil în cauză, așa că vor contribui la o glicozilare mai rapidă; iar în cazul esterilor (**D** în schema 18) se observă efectul invers.

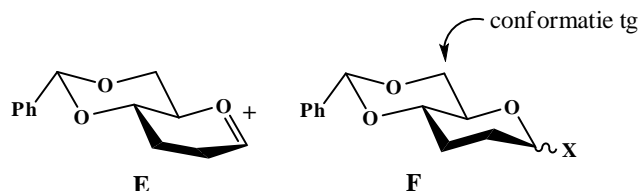


Schema 18

Bols a introdus recent conceptual de donator de glicozil “super activate”(super armed) pentru purtătorii unor grupări protectoare voluminoase, de tip silil [15, 16].

## E. Influența prin „control torsional”

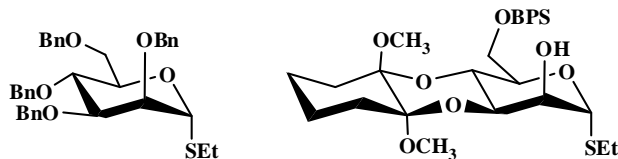
Tot Fraser-Reid a observat că fuzionarea unui al doilea ciclu piranozic cu cel al donorului de glicozil ar putea influența activitatea ce se desfășoară la centrul anomic al zaharului astfel imobilizat; de exemplu prezența unui ciclu benzilidenic pe un donor de altfel “activat” încetinește procesul de glicozilare [17]. Explicația sugerată la acel moment era că un astfel de ciclu împiedică procesul de aplatizare al ciclului piranozic al donorului de glicozil la momentul formării ionului oxocarbeniu (E, schema 19).



Schema 19

Această teorie a fost confirmată apoi tot prin cercetările lui Bols, care a dovedit că viteza de reacție redusă se datorează și unui efect electronic prin aceea că un ciclul 4,6-benzilidenic blochează substituții de pe atomii C5-C6 în conformația tg mai puțin favorabilă (mai puțin reactivă)(F schema 18) [18, 19].

Pe acest concept s-a bazat Ley când a încercat protejarea trans diolilor vicinali prin formarea de diacetali. Astfel de diacetali imprimă ciclului piranozic un anumit grad de rigiditate și deci descurajează formarea ionilor oxocarbeniu (schema 20); pentru a descrie acest proces, Ley a introdus termenul de „reglare a reactivității”(reactivity tuning) [20-22].



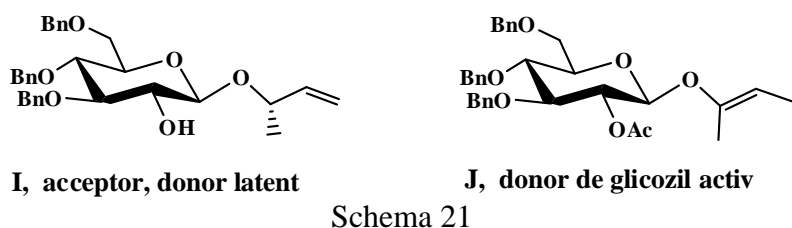
H, mai puțin reactiv ca donor de glicozil

Schema 20

Aceleași observații sunt valabile și pentru donori și acceptori de glicozil ce conțin grupe protectoare 4,6-benzilidenice [23, 24].

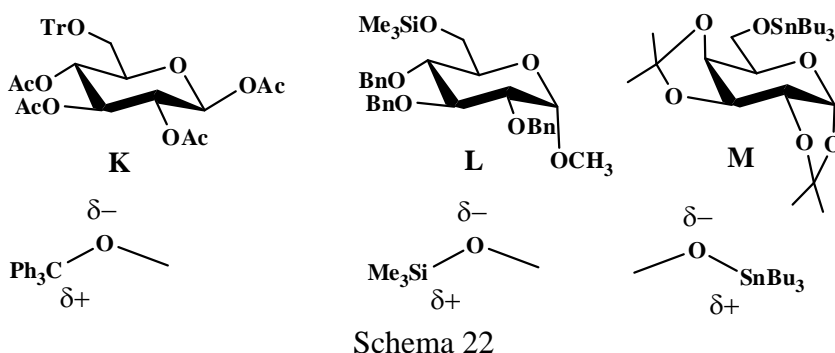
## F. Conceptul “latent/activ”

Donorii de glicozil „latenți” se caracterizează printr-o grupă protectoare la atomul de carbon anomic ce este stabilă la majoritatea condițiilor în care are loc reacția de glicozilare în mod obișnuit, dar care poate fi manipulată mai târziu în secvența de sinteză cu reactivi specifici pentru a obține un donor „activ” [25]. De exemplu but-3-en-2-il-3,4,6-tri-O-benzil-b-D-glucozida (I, schema 20) poate avea doar rol de acceptor de glicozil, pe când but-2-en-2-il-β-D-glucozida înrudită (obținută din prima prin acetilare și izomerizare cu catalizatorul Wilkinson)(J, schema 21) este un donor de glicozil activ datorită prezenței enol-eterului reactiv [26]:



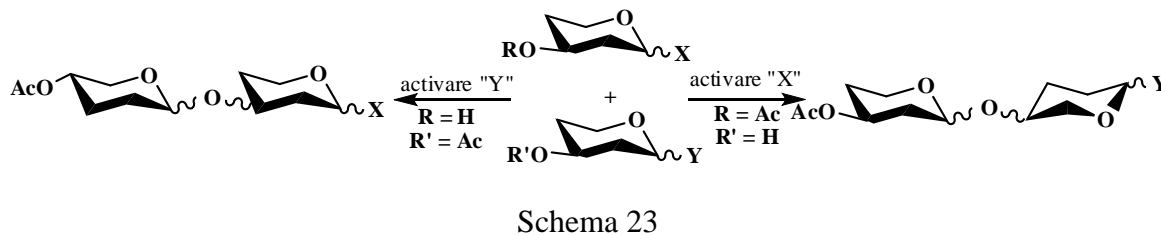
### G. Influența activării acceptorului de glicozil

Dacă la o reacție de glicozilare este implicat un donor de glicozil bun și acceptorul trebuie să fie suficient de reactiv pentru ca reacția să decurgă ușor. Pentru a mări reactivitatea unora din acceptorii uzuali și/sau pentru a mări chemoselectivitatea lor s-au efectuat diverse modificări la grupele hidroxil ale acestor componente. De exemplu, eterii de tritil [27](K, schema 22), silil [28](L, schema 22) sau stanil [29](M, schema 22) polarizează electronii legăturii spre atomul de oxigen, primii datorită stabilizării prin sarcina pozitivă ce apare pe atomul de carbon a tritilului, ceilalți prin natura electropozitivă a metalului incorporat. Consecința generală este crearea unui atom de oxigen mai nucleofil în molecula acceptorului (ce depășește ca influență orice alt efect steric prezent în moleculă)(schema 22):



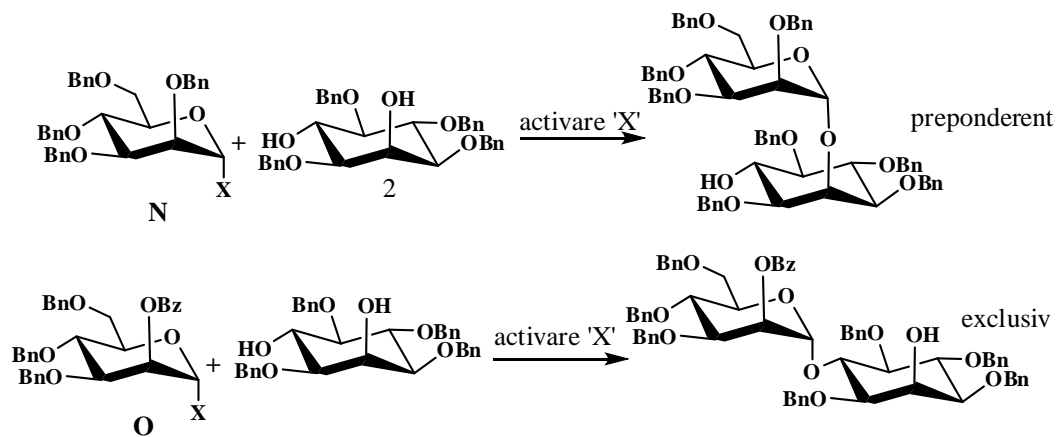
### H. Controlul prin conceptul de ortogonalitate

Conceptul de ortogonalitate se folosește mai ales la grupele protectoare ale unei molecule de zahar și reprezintă o problemă internă a moleculei în cauză, deoarece se referă la două sau mai multe grupări hidroxil protejate în mod diferit. Dacă ne referim la conceptul de ortogonalitate referitor la donorii de glicozil, Ogawa a formulat teoria [30] ce apoi a fost primită de toată comunitatea științifică. În esență, ortogonalitatea donozilor de glicozil cere ca doi donori cu grupe protectoare diferite la poziția anomică, prezenți în mediul de reacție, să fie capabili să fie activați în mod diferit. Astfel se pot obține diferite legături glicozidice (schema 23):



## I. Selectivitatea reciprocă donor/acceptor

Acest concept a fost formulat de Fraser-Reid [31] dar își are originile în observațiile făcute de Paulsen [32]. În esență, donorul și acceptorul trebuie să fie o „pereche ideală”: un donator ce posedă o grupare 2-O-benzil (N, schema 24) va forma o legătură glicozidică 1-2 cu un acceptor inozitol cu hidroxili liberi la C2 și C4, în vreme ce donorul ce posedă o grupare 2-O-benzoil (O, schema 24) va forma exclusiv o legătură glicozidică 1-4 cu același acceptor (schema 24):



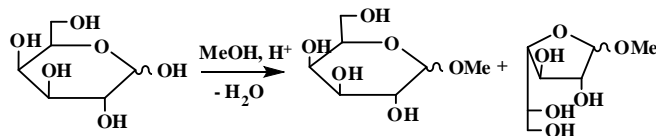
Schema 24



## I.2. METODE DE OBTINERE A O-GLICOZIDELOR

### I.2.1. Metode clasice:

**A. Metoda Fischer-Helferich** - Această metodă constă dintr-o reacție de substituție a hidroxilului anomerice activat în mediu acid. Metoda are rezultate bune în sinteza de alchil glicozide simple (schema 25).

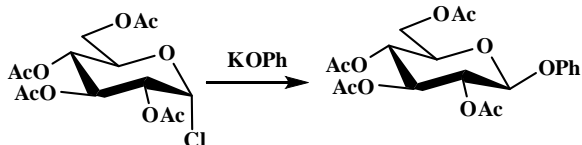


Schema 25

Gradul de complexitate al produșilor de reacție este mare deoarece mai multe grupări OH sunt amplasate corespunzător pentru a participa la formarea semiacetalului și se formează amestecuri de acetali (glicozide cu diferite mărimi ale ciclului).

**B. Metoda Koenigs-Knorr** - Această metodă pornește de la înlocuirea grupării hidroxil anomerice cu clor sau brom în etapa de activare. Se generează astfel un  $\alpha$ -haloeter care în etapa de glicozilare poate fi activat ușor cu promotori halofili (săruri de metale grele) ducând la un transfer ireversibil de glicozil spre acceptor. Necesitatea de a utiliza cantități cel puțin echimolare de sare de metal greu și dificultatea de a scăpa de reziduuri sunt factori ce limitează utilizarea metodei.

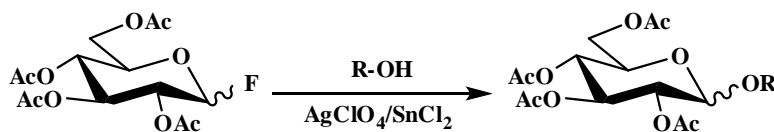
Primul caz de glicozilare cu halogenură de glicozil a fost comunicat în 1879 de către Michael care a pus să reacționeze “acetoclorohidroza” cu “fenat de potasiu” (schema 26):



Schema 26

### I.2.2. Metode moderne de O-glicozilare

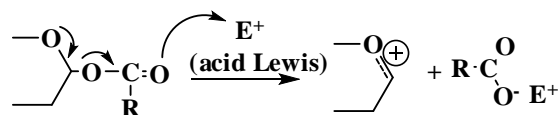
**A. Metode derivate din metoda Koenigs-Knorr. Metoda cu fluoruri de glicozil** - Introducerea fluorului ca grupă partantă în poziția anomerice conduce la intermediari donori de glicozil cu legătura C-F în poziție anomerice. Unul din avantajele notabile ale acestui tip de donor de glicozil este stabilitatea sa termică și chimică mai mare față de a altor halogenuri de glicozil. Proprietățile de donor de glicozil ale acestor fluoruri sunt mai slabe decât ale celorlalte halogenuri, deci au nevoie de activatori specifici (schema 27). Alți activatori utili sunt TMSOTf sau AgOTf.



Schema 27

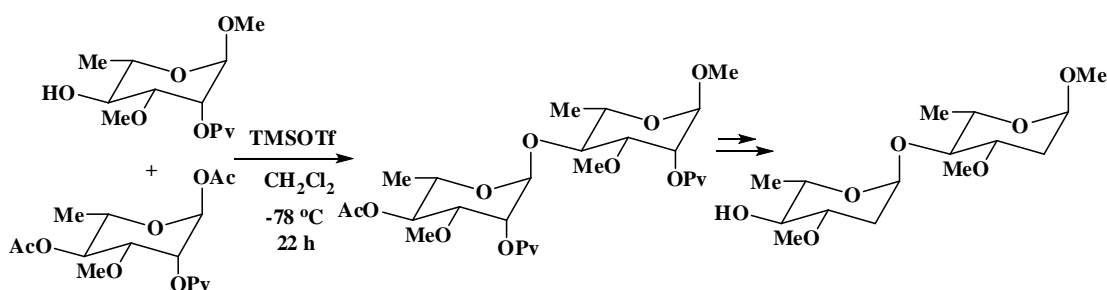
**B. Metoda cu O-acil zaharuri** - Gruparea acetat din poziția anomerice a unui zahar peracetilat este cea mai reactivă, deci poate genera un donor de glicozil cu activare corespunzătoare (schema 28). O

serie de acizi Lewis (agenți electrofili) au fost folosiți pentru generarea ionului de oxocarbeniu, după cum urmează:  $\text{SnCl}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{TMSOTf}$  și  $\text{TrClO}_4$ .



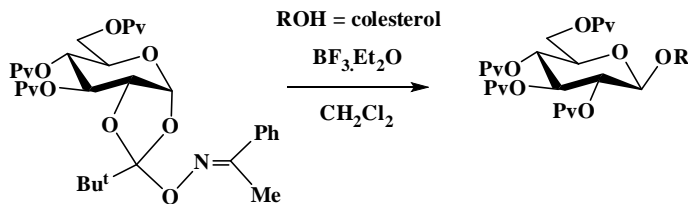
Schema 28

Avantajul metodei îl constituie ușurința de preparare a donorului de glicozil (peracetilarea zaharurilor este o operație banală ce decurge la temperatură obișnuită în piridină cu anhidridă acetică și în prezența DMAP). Nu numai zaharuri peracetilate pot fi glicozilate pe această cale, un bun exemplu în acest sens fiind sinteza componentei dizaharidice a avermectinei, antibiotic, antiparazitic (schema 29)[33].



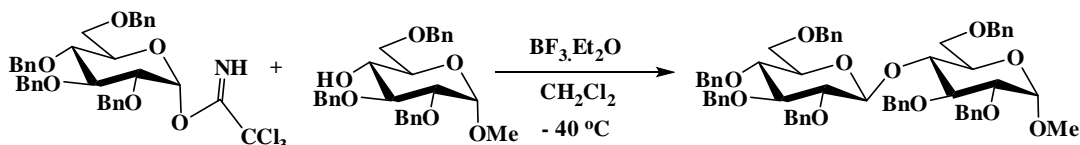
Schema 29

**C. Metoda cu ortoesterei** - Metoda cu ortoester a fost utilizată la construirea legăturilor 1,2-trans-glicozidice. Ortoesterei funcțiilor alcoolice de la C1 și C2 ale unui zahar în forma piranozică sau furanozică se prepară ușor din halogenuri de acilglicozil în condiții bazice. Ortoesterei pot fi activați cu acizi protici sau cu acizi Lewis prin acest procedeu obținându-se randamente bune de 1,2-trans-glicozide. Kunz [34]. a raportat o nouă metodă de glicozilare cu un nou donor, 1,2-O-[1-[[N-(1-feniletiliden)amino]oxil]-2,2-dimetilpropiliden] glucopiranozida utilizând drept catalizator  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  în  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (schema 30).



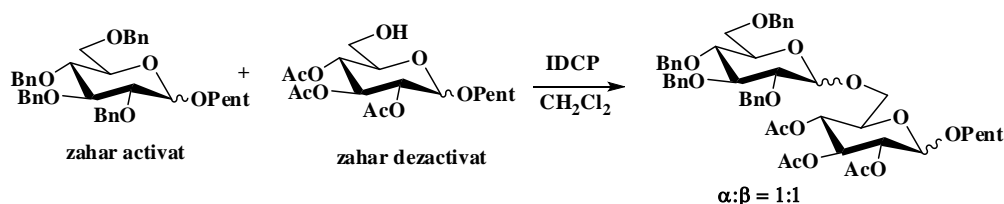
Schema 30

**D. Metoda cu tricloracetimidat** - O-glicozil tricloracetimidații pot acționa ca donori de glicozil puternici în cataliză acidă, în prezența acceptorului formându-se ireversibil glicozida (schema 31).



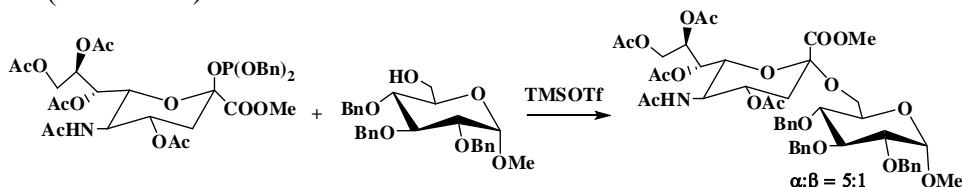
Schema 31

**E. Metoda cu n-pentenil glicozide** - În prezența unui electrolit, gruparea n-pentenil poate fi activată chemiospecific furnizând un donor de glicozil. Electrolitii utilizați pentru activarea NPG sunt N-bromo- și N-iodosuccinimidele (NBS, NIS). Doar cu acești agenți de activare însă reacțiile sunt foarte lente (ore, zile). Adăugarea de acizi Lewis sau acizi protici precum acidul triflic (TfOH) sau triflatul de trietilsilil (TESOTf) mărește mult viteza reacției (schema 32). Fraser-Reid și colab.[35] au introdus un concept nou și unic în reacția de glicozilare în 1988. În studiile lor asupra reacției de glicozilare a n-pentenil glicozidelor, au constatat că donatorul de glicozil ce posedă o grupare aciloxi cu proprietăți atrăgătoare de electroni la poziția C-2 este mult mai puțin reactiv decât donatorul ce are o grupare benzil în aceeași poziție (schema 32). Astfel reacția de glicozilare poate avea loc selectiv.



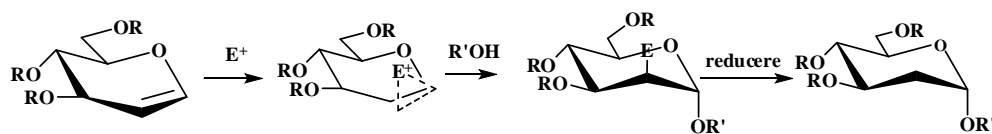
Schema 32

**F. Metoda cu fosfiți de glicozil** – această metodă este utilă la prepararea oligozaharidelor, dar randamentele raportate sunt moderate [2]. Activarea fosfiților de glicozil se poate realiza prin tratare cu cantități catalitice de triflat de trimetilsilil (TMSOTf). În prezența unui acceptor de glicozil, se obțin glicozide (schema 33).



Schema 33

**G. Metoda de sinteză a glicozidelor prin intermediul glicărilor** - Această metodă exploatează olefina bogată în electroni din enol eterul prezent într-un glică, care prin tratare cu un reactiv electrolit ( $E^+ = \text{IDCP}$ ) conduce la formarea unei specii dionice de tip „oniu”. Aceasta funcționează ca donator în prezența unui alcool ( $R'OH$ ) și se obțin 2-deoxipiranozide (schema 34):

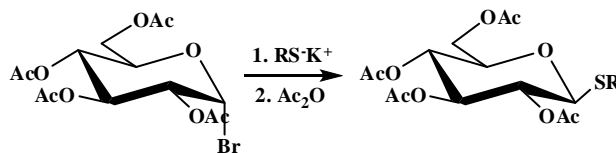


Schema 34

### I.3. TIOGLICOZIDE

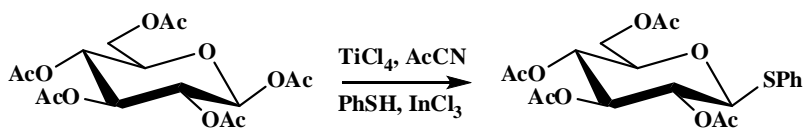
#### I.3.1. Metode de obținere a tioglicozidelor

**A. Reacția între halogenuri de glicozil acilate și anionul tiolat**— Reacția între o halogenură de glicozil acilată și anionul tiolat produce o 1-tioglicozidă având, în mod normal, o configurație  $\beta$  (schema 35). Datorită condițiilor alcaline utilizate, este de obicei necesară reacetilarea produsului de reacție [36].



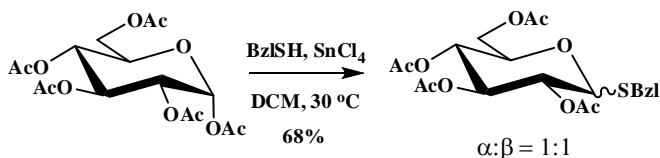
Schema 35

Uneori halogenura de glicozil se generează in situ, în prezența acceptorului (schema 36)[37]:



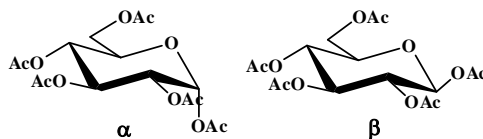
Schema 36

O altă metodă de sinteză a tioglicozidelor în care alcoolul tiobenzilic funcționează ca acceptor și în care acilhalogenura se generează in situ utilizează ca donor de halogenură tetraclorura de staniu (schema 37)[38].



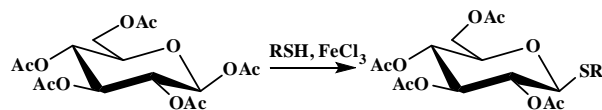
Schema 37

**B. Reacția aldozelor acilate cu tioli în prezența unui acid Lewis.** În prezența unui acid Lewis piranozidele complet acetilate reacționează cu tioli. Asistența anchimerică a substituentului din poziția 2 a glicozidei face ca acetatii aflați în poziție  $\beta$  să reacționeze mai rapid decât cei aflați în poziție  $\alpha$  (schema 38)



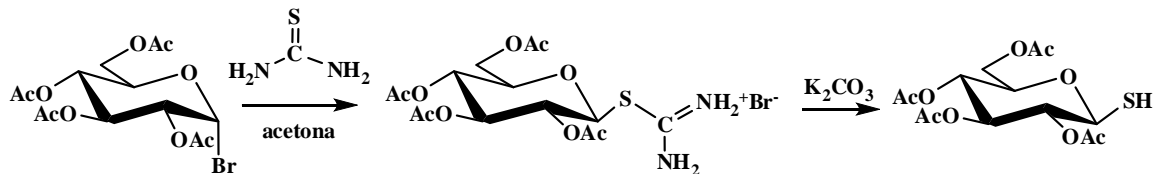
Schema 38

iar la produșii de reacție predomină configurația  $\beta$ . În loc de tioli propriu-ziși se pot utiliza de asemenea derivați de staniu sau trimetilsililați (schema 39)[39].



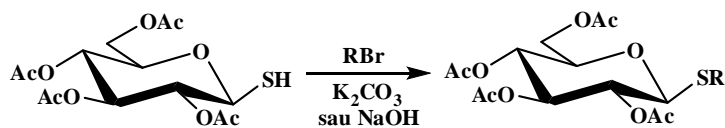
Schema 39

**C. Reacția halogenurilor de glicozil acilate cu intermediari tiouree** —tratarea unei halogenuri de glicozil acilate cu tiouree produce o sare de pseudotiuroniu, care după hidroliză cu soluție apoasă de carbonat de potasiu se transformă într-o 1-tioglicopiranoză acilată cu configurație  $\beta$  (schema 40) [37, 40].



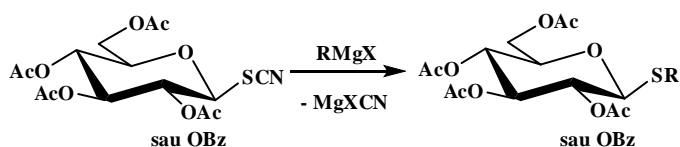
Schema 40

**D. Reacția între o 1-tioaldoză și o halogenură de alchil** - Reacția între tetra-O-acetil-1-tiopiranoză și o bromură sau iodură de alchil duce la formarea de alchil-1-tioglicozidă, fără modificarea configurației anomere. Această metodă de realizare a unei grupări partante este utilă în special când tiolul corespunzător este prea sensibil la condițiile de reacție din sintezele de oligozaharide (schema 41) [41].



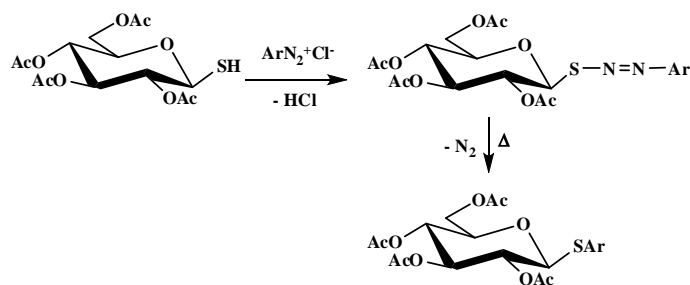
Schema 41

**E. Reacția tiocianaților de glicozil cu reactivi Grignard** —Reacția halogenurilor de glucopiranozil acetilate cu tiocianat de potasiu duce la formarea 1-tiocianaților corespunzători [41]. Apoi aceștia reacționează la  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  cu reactivi Grignard și se obțin 1-tioglicozide (schema 42) [42].



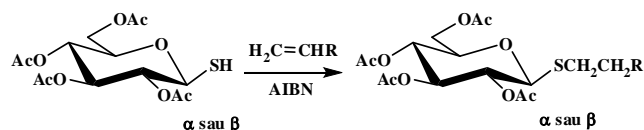
Schema 42

**F. Reacția 1-tioaldozelor cu săruri de arildiazoni** —aril 1-tioglicozidele acilate pot fi obținute, de exemplu, din reacția între 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-D-glucopiranoză și o sare de arildiazoni, apoi compusul diazoniu intermediar se descompune prin tratament termic (schema 43)[41].



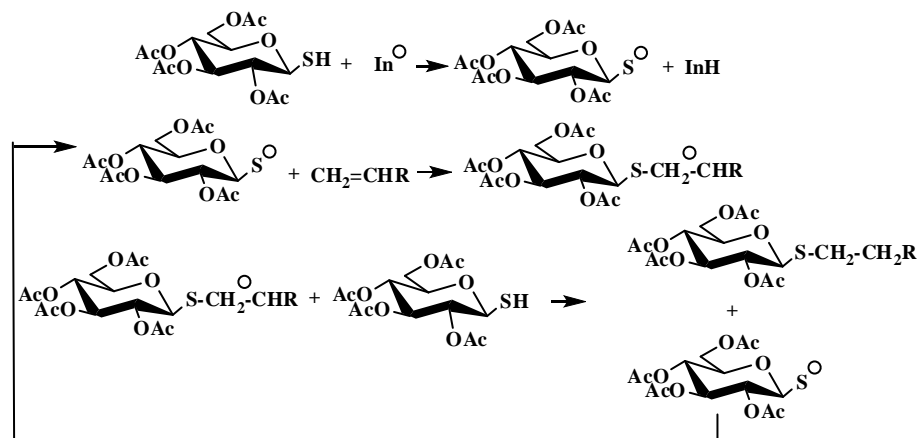
Schema 43

**G. Adiția radicalică de 1-tioaldoze la alchene.**—Reacția 1-tioaldozelor acetilate cu alchene în prezență de azobis(isobutironitril) (AIBN) produce 1-tioglicozide acilate (schema 44) [43].



Schema 44

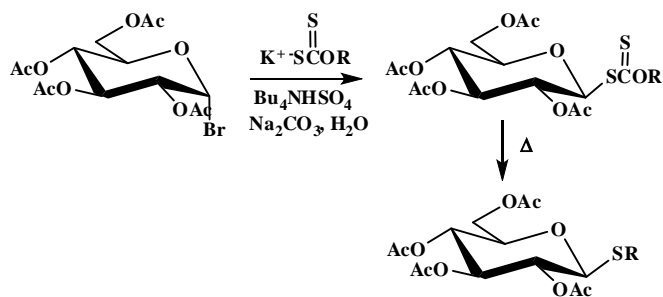
Mecanismul general după care are loc procesul de adiție, cu obținerea unor randamente ridicate de tioglicozide (de la 50 la 93%) [44] se prezintă mai jos în schema 45.



Unde In= inițiator, de exemplu azobis(izobutironitril) (AIBN)

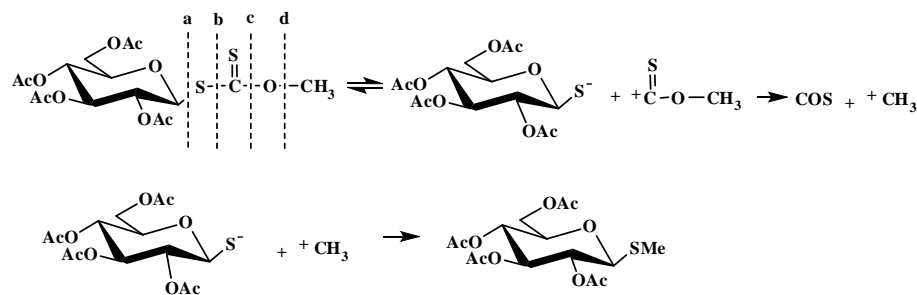
Schema 45

**H. Descompunerea xantaților de glicozil.**—Tratarea halogenurilor de glicopiranozil cu un alchilxantat de potasiu [41,45] sau tratarea 2,3,4,6-tetra-*O*-benzilglicopiranozelor cu clorură de *p*-toluensulfonil și cu alchilxantați de potasiu în condiții de transfer de fază [46] duce la obținerea de 1-ditiocarbonați (xantați), care se descompun ușor la 1-tioglicozide, prin tratament termic în topitură (schema 46).



Schema 46

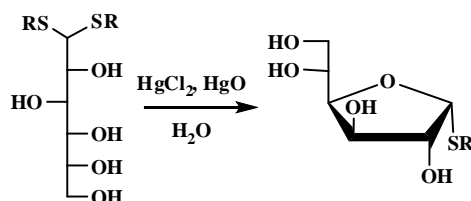
Mecanismul reacției de descompunere termică a xantaților a fost elucidat în anul 1970 [45], prin următoarele argumente (schema 47):



Schema 47

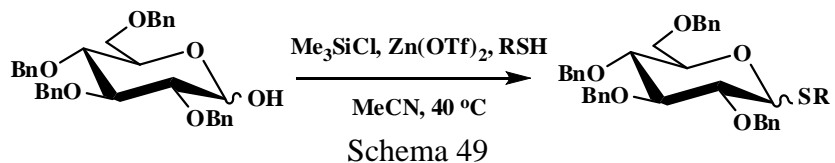
Disocierea metilxantatului de tetraacetilglucoză în poziția (a) din schema 47 se exclude deoarece s-a constatat că configurația anomerică nu se modifică în timpul reacției. Disocierea în poziția (c) se exclude prin faptul că se poate recristaliza metilxantatul de glicozil ușor din alcool. Disocierea în poziția (d) se exclude pentru că nu s-a observat rearanjarea xantatului de tetraacetilglucoză în ditiocarbonat la dizolvarea într-un solvent polar. Mecanismul propus este următorul: xantatul de tetraacetilglucoză se descompune în poziția (b) cu obținerea anionului 1-tio-D-tetraacetilglucoză și cationul metoxicarbonil, care se descompune ireversibil la sulfură de carbon și un cation metilic. Apoi anionul 1-tio-D-tetraacetilglucoză reacționează cu cationul metil, formându-se tioglucozida. Faptul că metilxantatul de tetraacetilglucoză produce cu randamente ridicate 2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-S-acetil-1-tio-β-D-glicopiranoză la dizolvarea într-un amestec de piridină și anhidridă acetică susține acest mecanism propus.

**I. Hidroliza parțială a ditionoacetililor.**—Desulfurarea parțială a ditionoacetililor cu săruri de mercur(II) este utilă pentru obținerea de 1-tioglicozide cu configurație α, care nu se pot obține prin metodele menționate anterior și, de asemenea se poate aplica pentru prepararea de tioglicozide furanozice, caz în care are loc închiderea ciclului furanozic ca etapă termodinamică a reacției (schema 48) [40].



Schema 48

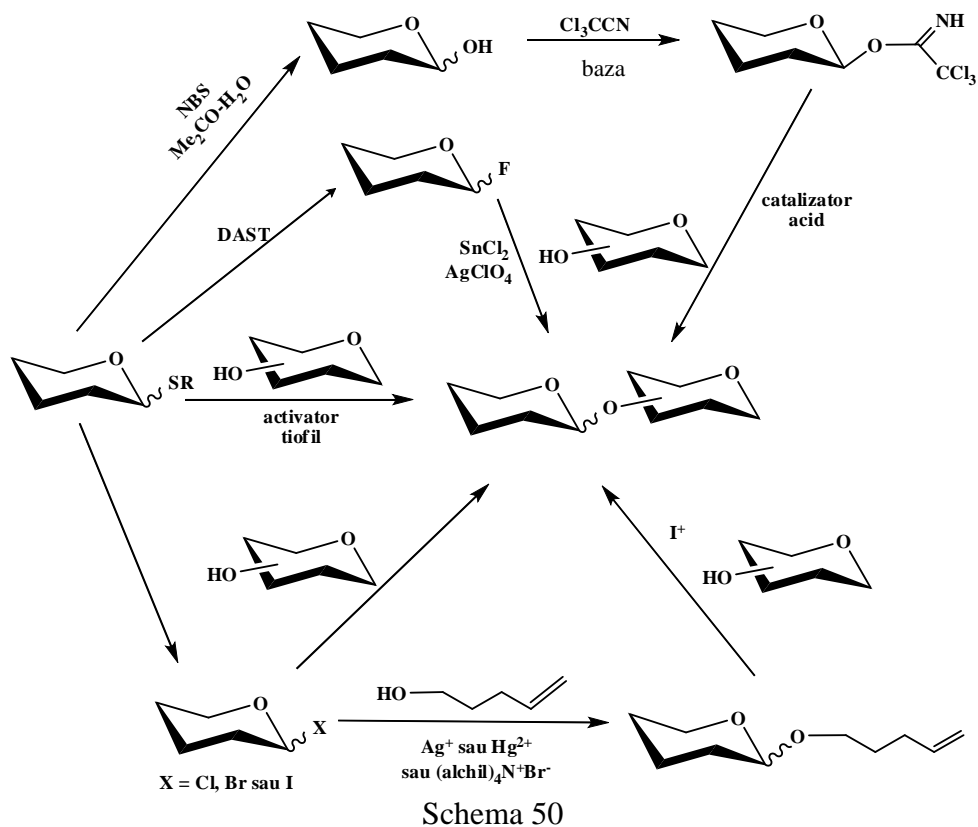
**J. O modificare a metodei Suzuki** de obținere a O-glicozidelor în care acceptorul este un tiol alifatic (oricare cu excepția metantiolului) și care folosește ca promotor triflatul de zinc în condițiile în care agentul de glicozilare este un amestec de anomeri (întotdeauna ușor de obținut) ducе la obținerea de S-glicozide (ca amestec de anomeri) cu randamente modeste (schema 49)[47].



### I.3.2. Utilizări ale tioglicozidelor

#### A. Tioglicozidele ca donori de glicozil

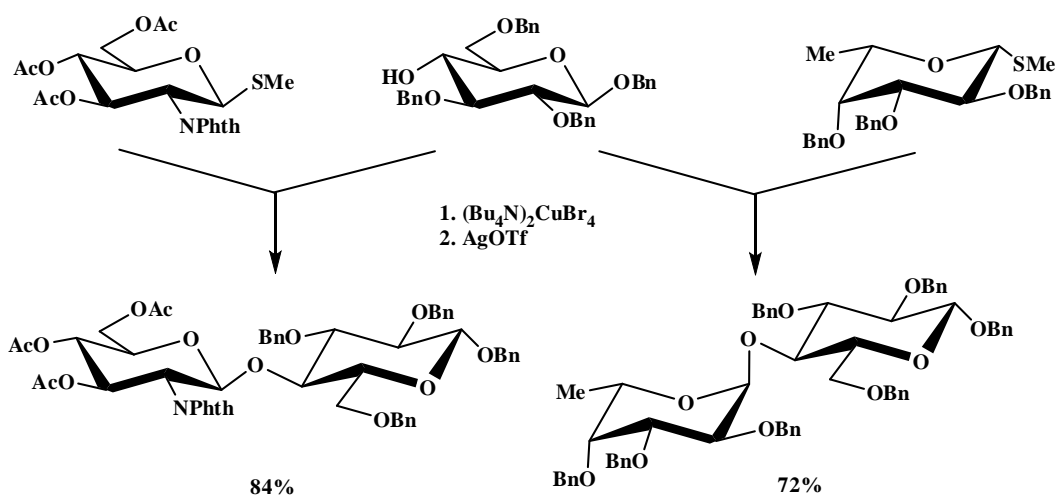
**a.** 1-Tioglicozidele sunt donori extrem de versatili în reacțiile de glicozilare. Ele pot fi transformate direct în O-glicozide prin tratare cu compuși hidroxilici în prezența unui promotor tiofil. Mai mult, ele se pot transforma rapid în alte tipuri de donori de glicozil, precum cloruri, bromuri, ioduri sau fluoruri de glicozil, trichloroacetimidăți sau pentenil-glicozide. Aceste caracteristici permit o flexibilitate importantă în construirea de oligozaharide și glicoconjugate. Diversele posibilități sunt prezentate în schema 50.





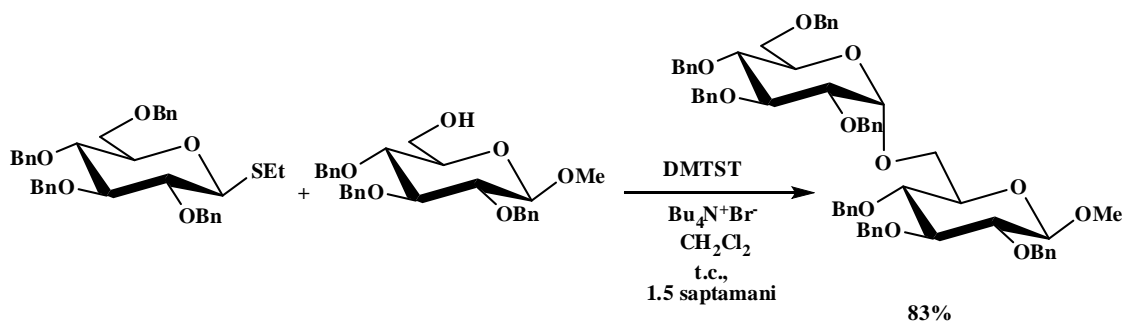
La activarea directă cu promotori tiofilii, 1-tioglicozidele reacționează cu compuși hidroxilici și se obțin glicozide. Dar sunt disponibile și alte variante. Astfel, 1-tioglicozidele pot fi transformate în bromuri, cloruri sau temporar în ioduri de glicozil. Acestea la rândul lor pot acționa ca donori de glicozil dacă sunt activate cu activatori specifici  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ , sau bromură de tetraalchilamoniu. 1-Tioglicozidele pot de asemenea să fie transformate în 4-pentenil-glicozide folosind aceiași promotori; la rândul lor pentenil-glicozidele pot fi activate de către ionul iodoniu și devin donori de glicozil în reacții de glicozilare. Tioglicozidele pot fi transformate de asemenea în fluoruri de glicozil, utilizate apoi la rândul lor ca donori în alte reacții. De asemenea se pot deproteja parțial tioglicozidele, eliberând poziția 1-OH. Acești compuși pot fi transformați apoi în imidați sau tricloroimidați, de asemenea buni donori de glicozil. Toate aceste variante de prelucrare permit multiple posibilități de abordare a sintezei de oligozaharide.

**b. Generarea de halogenuri de glicozil din 1-tioglicozide prin metode *in situ***—În prezența unui compus hidroxilic și cu promotor triflat de argint, reacția între o tioglicozidă și  $(\text{Bu}_4\text{N})_2\text{CuBr}_4$  produce o bromură de glicozil *in situ*, iar aceasta se transformă imediat într-o glicozidă (schema 51)[48].



Schema 51

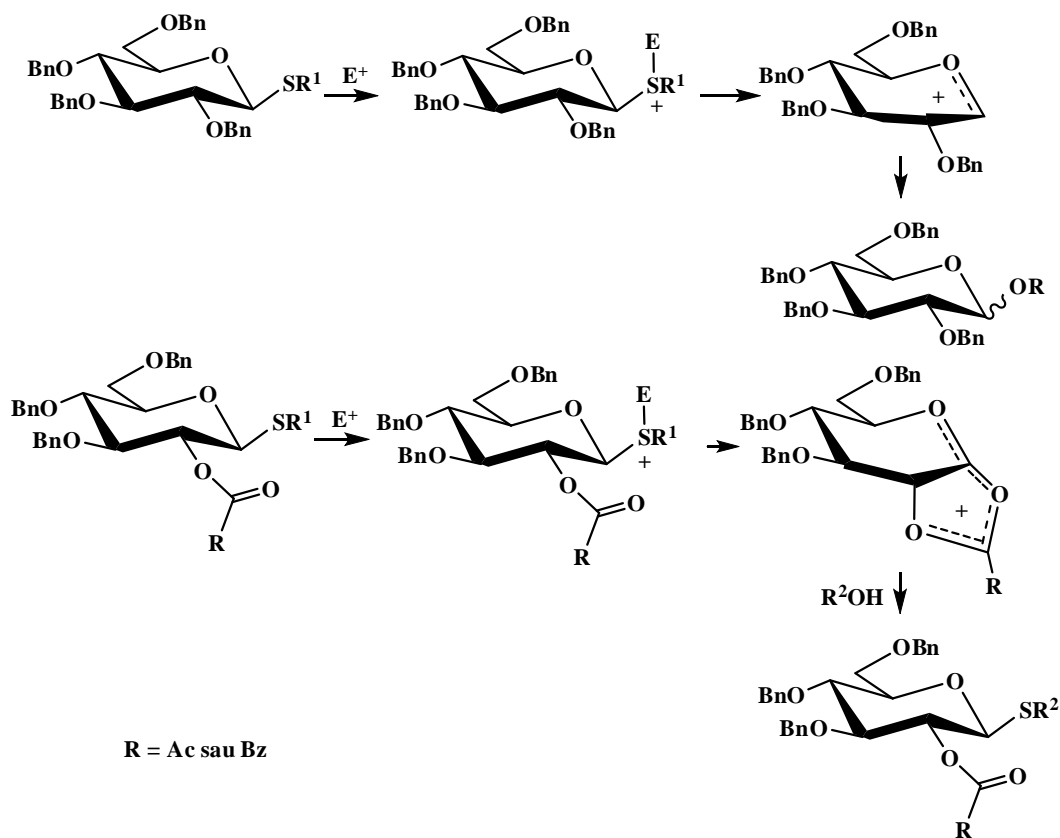
În mod asemănător, reacția dintre o tioglicozidă și un compus hidroxilic în prezența unui exces de bromură de tetraalchilamoniu și a unui promotor tiofil de tip triflat de dimetil(metiltio)sulfoniu (DMTST) decurge cu stereoselectivitate foarte bună (schema 52)[49].



în absența  $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$ : t.c., 2 zile, se obține 50% dizaharida legată  $\alpha$  și 30% dizaharida legată  $\beta$

Schema 52

c. **Utilizarea directă a 1-tioglicozidelor ca donori de glicozil folosind activatori tiofili**—  
Mecanismul general al unei reacții de glicozilare în care este implicată o 1-tioglicozidă benzilată sau acilată este prezentat în schema 53.

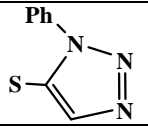
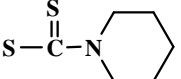


Schema 53

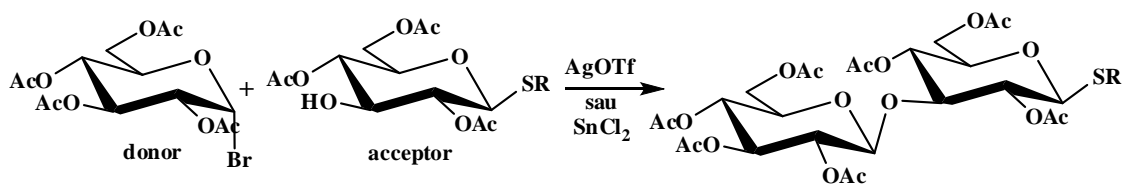
Utilizarea directă a 1-tioglicozidelor ca donori în reacția de glicozilare a fost introdusă de către Ferrier și colaboratorii săi [50]. Ei au consemnat că fenil 1-tio-D-glucopiranozidele pot fi solvolizate în prezența acetatului mercuric în metanol sau pot reacționa cu alți compuși hidroxicici și se obțin glicozide cu randamente utile. Aceste observații au declanșat investigarea și descoperirea unei multitudini de promotori. Dintre aceștia menționăm  $\text{Cu}(\text{OTf})_2$  [51],  $\text{Hg}(\text{OBz})_2$  [52],  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  [53],  $\text{Pd}(\text{ClO}_4)_2$  [54], N-bromosuccinimida (NBS) [55],  $\text{PhHgOTf}$  [56], și  $\text{HgCl}_2$  [57]. Totuși acești promotori nu au dus la obținerea unor randamente ridicate, necesare în sinteza de oligozaharide. Această situație a fost îmbunătățită considerabil de către Lönn, care a constatat că triflatul de metil este cel mai util promotor direct în glicozilări ce folosesc 1-tioglicozide [58]. 1-Tioglicozidele ce posedă un substituent participant la atomul O-2 produc glicozide cu configurație  $\beta$ , iar cele la care substituentul de la atomul O-2 este neparticipant produc amestecuri anomerice. Aceste observații au dus la descoperirea ulterioară a mai multor promotori tiofili ce produc randamente ridicate, precum cei prezentați în tabelul 1.

**Tabelul 1.** Activatori tiofili

Activator	SR <sup>1</sup>	Bibliografie
MeOTf	SMe, SEt, SPh	58
DMTST	SMe, SEt, SPh	49

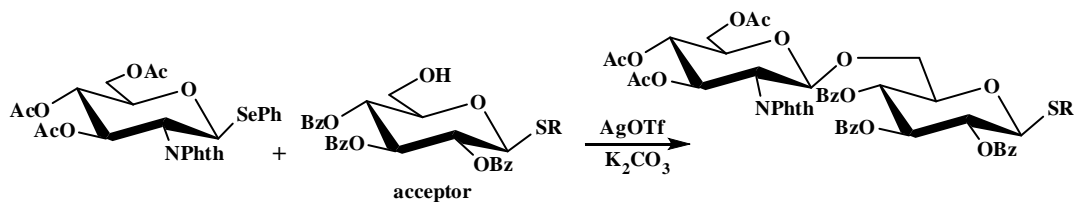
NOBF <sub>4</sub>	SMe	59
MeSOTf, MeSBr	SMe, SEt, SPh	60
TrClO <sub>4</sub> (cat)	SCN, (acceptor ROTr)	61
PhSeOTf	SMe	62
MeI	Spy	63
NIS-TfOH	SMe, SEt, SPh	64
IDCP	SEt	65
AgOTf		66
TBPA	SEt, SPh	67
DMTST sau AgOTf sau SnCl <sub>4</sub> sau FeCl <sub>3</sub>		68

**B. 1-Tioglicozidele ca acceptori de glicozil în reacțiile de glicozilare**— dacă pentru a transforma o 1-tioglicozidă în donor de glicozil este necesară o activare cationică, ar fi de așteptat ca aceasta să poată acționa și ca acceptor de glicozil, în cazul în care conține o grupare hidroxil liberă iar donorul respectiv este activat pe altă cale. Astfel se poate realiza o glicozilare între o 1-tioglicozidă cu o grupare hidroxil liberă și o bromură sau o clorură de glicozil pe post de donor, utilizând drept promotor triflat de argint, clorură de staniu(II), sau perclorat de argint (schema 54).



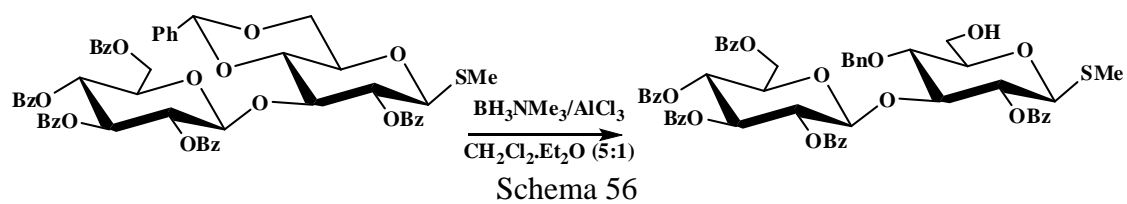
Schema 54

Drept donori în acest caz se pot utiliza și fenil 1-selenoglicozide, în acest caz activatori sunt fie carbonatul de potasiu fie cel de argint (schema 55)[69].



Schema 55

**C. 1-Tioglicozidele în secvențele de protejare-deprotejare a glicozidelor**—Tot datorită cerinței ca activatorul pentru centrul anomic al unei 1-tioglicozide să fie cationic, se pot concepe mai multe variante de manipulari de grupe protectoare la alte poziții ale inelului piranozic sau furanozic. Aceste manipulari includ esterificări, deesterificări, acetalizări, hidroliză de acetali (în condiții ce nu afectează centrul anomic), alchilări sau esterificări prin transfer de fază [70] sau deschiderea ciclului acetalilor benzilidenici (schema 56) [71].



După astfel de operațiuni de protejare-deprotejare tioglicozidele pot fi activate chemoselectiv pentru a deveni donori de glicozil.

## I.4. Bibliografie

### Bibliografie introdúcere

1. Levy D. E., Fügedi P., *The Organic Chemistry of Sugars*, 2006 by Taylor & Francis Group LLC
  2. Brito-Arias M., *Synthesis and Characterization of Glycosides*, 2007, Springer Science+Business Media, LLC, New York
  3. Robyt J. F., *Essentials of Carbohydrate Chemistry*, 1998, Springer-Verlag, New York
  4. Whistler R.L., Lake W.C., *Biochem. J.*, 130 (1972) 919-925; R.L. Whistler, *Science* 186 (1974) 431-433
  5. Belica P.S., Franck R.W., *Tetrahedron Lett.*, 39 (1998) 8225
  6. Robiquet P. J., Boutron F., *J. Pharm.*, 17, (1831) 279
  7. Gadamer J., *Arch. Pharm.*, 235, 44, (1897) 83
  8. Bussy A., *J. Pharm.*, 26, (1840) 39
  9. Stick R. V.; Williams S. J., *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life*, Second Edition Copyright 2009, Elsevier
  10. Wulff G., Schroeder U., Wichelhaus J., *Carbohydr. Res.*, 72, (1979) 280
  11. Jiinemann J., Lundt I., and Thiem J., *Liebigs Ann. Chem.*, (1991) 759-764
  12. Paulsen H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 21, (1982) 155
  13. Fraser-Reid B., Wu Z., Udodong U. E., Ottosson H., *J. Org. Chem.*, 55, (1990) 6068
  14. Zhang Z., Ollmann I.R., Ye X.-S., Wischnat R., Baasov T., Wong C.-H., *J. Am. Chem. Soc.*, 121, (1999) 734
  15. Pedersen C.M., Nordstrom L.U., and Bols M., *J. Am. Chem. Soc.*, 129, (2007) 9222
  16. Jensen H.H., Pedersen C.M., Bols M., *Chem. Eur. J.*, 13, (2007) 7576.
  17. Fraser-Reid B., Wu Z., Andrews C.W., Skowronski E., and Bowen J.P., *J. Am. Chem. Soc.*, 113 (1991) 1434
  18. Jensen H.H., Nordstrom L.U., Bols M., *J. Am. Chem. Soc.*, 126, (2004) 9205
  19. Crich D., Vinogradova O., *J. Am. Chem. Soc.*, 129, (2007) 11756
  20. Douglas N.L., Ley S.V., Lucking U., and Warriner S.L., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1, 51 (1998) 82
  21. Green L., Hinzen B., Ince S.J., Langer P., Ley S.V., Warriner S.L., *Synlett*, (1998) 440.
  22. Grice P., Ley S.V., Pietruszka J., Priepke H.W.M., Walther E.P.E., *Synlett*, (1995) 781
  23. Chen L., and Kong F., *Tetrahedron Lett.*, 44 (2003) 3691
  24. Zeng Y., Kong F., *Carbohydr. Res.*, 338 (2003) 843
  25. Cao S., Hernández-Matéó F., Roy R., *J. Carbohydr. Chem.* 17, (1998) 609-631
  26. Boons G.-J., Isles S., *Tetrahedron Lett.*, 35 (1994) 3593
  27. Tsvetkov Y.E., Kitov P.I., Backinowsky L.V., Kochetkov N.K., *J. Carbohydr. Chem.*, 15 (1996) 1027
  28. Ziegler T., *J. Prakt. Chem.*, 340, (1998) 204
  29. Ogawa T., Matsui M., *Carbohydr. Res.*, 51 (1976) C13
  30. Kanie O., Ito Y., Ogawa T., *J. Am. Chem. Soc.*, 116 (1994) 12073
  31. Fraser-Reid B., Lopez J. C., Gomez A. M., Uriel C., *Eur. J. Org. Chem.* (2004) 1387-1395
  32. Paulsen H., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 21 (1982) 155 -173
  33. Koide K., Ohno M., Kobayashi S., *Tetrahedron Lett.*, 32 (1991) 7065
  34. Kunz H., Harreus A., *Liebigs Ann. Chem.*, (1982) 41-48
  35. Mootoo D.R., Konradsson P., Udodong U., Fraser-Reid B., *J. Am. Chem. Soc.* 110 (1988) 5583
- ### Bibliografie sinteze S-glicozide:
36. Pedretti V., Veyrieres A., Sinaÿ P., *Tetrahedron*, 46 (1990) 77-88
  37. Nicotra F., Airolti C., Cardona F.: *Synthesis of C- and S-Glycosides*, *Comprehensive Glycoscience*, 2007, Chapter 1.16, Pages 647-683, Elsevier

38. Griffin F. K., Paterson D. E., Murphy P. V., Taylor R. J. K., *Eur. J. Org. Chem.* (2002) 1305-1322
39. Norberg T., în Khan S. H. și O'Neill R. A. (Eds.), *Modern Methods in Carbohydrate Synthesis*, Harwood Academic Publishers, 1995, pp. 82–106; și referințele cuprinse
40. Horton D., *Methods Carbohydr. Chem.*, 2 (1963) 433–437
41. Horton D., Hutson D. H., în M. L. Wolfrom and R. S. Tipson (Eds.), *Advances in Carbohydrate Chemistry*, Vol. 18, Academic Press, New York, 1963, p. 153.
42. Pakulski Z., Pierozynski D., Zamojski A., *Tetrahedron*, 50 (1994) 2975–2992
43. Lacombe J. M., Rakotomanomana N., Pavia A. A., *Tetrahedron Lett.*, 29 (1988) 4239–4296
44. Lacombe J.M., Rakotomanomana N., Pavia A.A., *Tetrahedron Letters*, 1988, 29 (34), 4293-4296
45. Sakata M., Haga M., Tejima S., *Carbohydr. Res.*, 13 (1970) 379–390
46. Szeja W., Bogusiak J., *Carbohydr. Res.*, 170 (1987) 235–239
47. Griffin F. K., Paterson D. E., Murphy P. V., Taylor R. J. K., *Eur. J. Org. Chem.* (2002) 1305-1322
48. Sato S., Mori M., Ito Y., Ogawa T., *Carbohydr. Res.*, 155 (1986) C6–C10
49. Fügedi P., Garegg P. J., *Carbohydr. Res.*, 149 (1986) C9–C12
50. Ferrier R. J., Hay R. W., Vethaviasar N., *Carbohydr. Res.*, 27 (1973) 55–61
51. Mukaiyama T., Nakatsuka T., Shoda S., *Chem. Lett.*, (1979) 487–490
52. van Cleve J. W., *Carbohydr. Res.*, 70 (1979) 161–164
53. Hanessian S., Bacquet C., Lehong N., *Carbohydr. Res.*, 80 (1980) C17–C22
54. Wuts P. G. M., Bigelow S. S., *J. Org. Chem.*, 48 (1983) 3489–3493
55. Nicolaou K. C., Seitz S. P., Papahatjis D. P., *J. Am. Chem. Soc.*, 105 (1983) 430–434
56. Garegg P. J., Norberg T., *Carbohydr. Res.*, 116 (1983) 162–165
57. Tsai T. Y. R., Jin H., Wiesner K., *Can. J. Chem.*, 62 (1984) 1403–1405
58. H. Lönn, *Carbohydr. Res.*, 139 (1985) 105–113; 115-121
59. Pozsgay V., Jennings H. J., *J. Org. Chem.*, 52 (1987) 4042–4052; 4635–4637
60. Dasgupta F., Garegg P. J., *Carbohydr. Res.*, 177 (1988) C13–C17
61. Kochetkov N. K., Klimov E. M., Malysheva N. N., *Tetrahedron Lett.*, 30 (1989) 5459–5462
62. Ito Y., Ogawa T., *Tetrahedron Lett.*, 29 (1988) 1061–1064
63. Reddy G. V., Kulkarni V. R., Mereyala H. B., *Tetrahedron Lett.*, 30 (1989) 4283–4286
64. Konradsson P., Udodong U. E., Fraser-Reid B., *Tetrahedron Lett.*, 31 (1990) 4313–4316
65. Veneman G. H., van Boom J. H., *Tetrahedron Lett.*, 31 (1990) 275–278
66. Tsuboyama K., Takeda K., Torii K., Ebihara M., Shimizu J., Suzuki A., Sato N., Furuhata K., Ogura H., *Chem. Pharm. Bull.*, 38 (1990) 636–638
67. Marra A., Mallet J.-M., Amatoreand C., Sinaÿ P., *Synlett*, (1990) 572–574
68. Fügedi P., Garegg P. J., Oscarson S., Rosen G., Silwanis B. A., *Carbohydr. Res.*, 211 (1991) 157–162
69. Schmidt R. R., Kinzy W., *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, 50 (1994) 21–123
70. Garegg P.J., Kvarnström I., Niklasson A., Niklasson G., Svensson S.C.T., *J. Carbohydr. Chem.*, 12 (1993) 933–953
71. Ernst. B., Hart G.W., Sinaÿ P., *Carbohydrates in Chemistry and Biology*, Ed. Wiley-VCH, Weinheim, New York, ISBN 3-527-29511-9

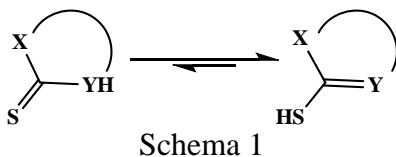
## **PARTEA A II-A: CONTRIBUȚII ORIGINALE**

### **CAPITOLUL II**

#### **OBȚINEREA DE TIOGLICOZIDE ALE 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR-5-SUBSTITUIȚI**

## II.1. TIOGLICOZIDE ALE MERCAPTO-HETEROCICLURILOR CU AZOT

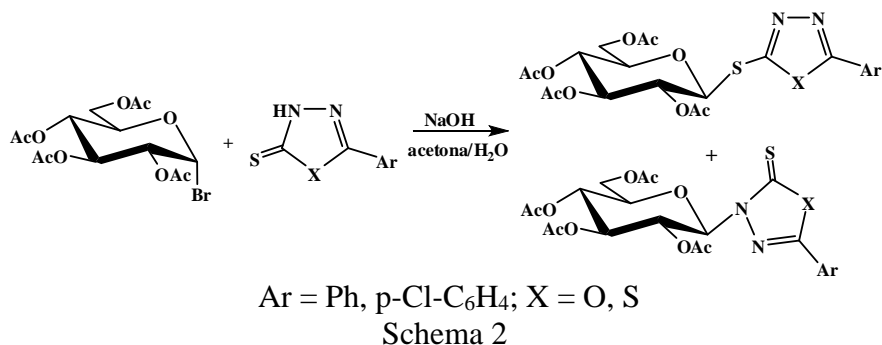
Deoarece literatura S-glicozidelor ce au ca și aglicon triazoli este extrem de săracă, scanarea literaturii pe acest subiect s-a extins pe: mercaptopiroli, mercaptotiazoli, mercaptoimidazoli (și a produșilor derivați cu benzenul), mercaptooxa- și -tiadiazoli și mercaptotriazoli (în toate cazurile s-au luat în considerare și variantele substituie alchilice, alchil-arilice, arilice și heterociclice). Toți compușii mercapto în care gruparea tiol este legată de un atom de carbon implicat într-o dublă legătură prezintă tautomerie tiol-tionă. (schema 1)



Dacă de exemplu  $Y = N$ , atunci în raport cu reacția de glicozilare compușii mercapto ai pentaheterociclicilor pot funcționa ca acceptori de glicozil atât prin atomul de sulf, cât și prin cel de azot. Nu puține sunt indicațiile bibliografice privitoare la obținerea amestecurilor de N- și S-glicozide.

### II.1.1. Tioglicozide ale mercapto-heterociclicilor cu azot în seria piranozică

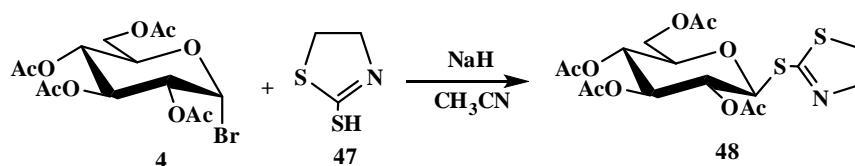
Pornind de la observația că 1,3,4-oxadiazolii și 1,3,4-tiadiazolii posedă o serie de proprietăți fiziologice (fungicide, bactericide, antipiretice, analgezice, antituberculoase) 2-tioxo-1,3,4-oxadiazolii și 2-tioxo-1,3,4-tiadiazolii substituiți în poziția 5 cu nucleu aromatic au fost legați de un rest de glucoză printr-o reacție de glicozilare Fischer [1]. Ca și donor de glicozil a fost utilizată acetobromoglucoza iar ca acceptor tiolatul de potasiu, reacția decurgând la temperatura camerei, într-un amestec acetonă:apă, cu obținerea de amestecuri de N- și S-glicozide (schema 2).



Din păcate compușii sintetizați în premieră absolută au fost caracterizați doar prin spectroscopie UV, punct de topire, spectroscopie IR și analiză elementară, lipsind cu desăvârșire informații privind geometria centrului anomic (la anul apariției articolului lipsind caracterizarea prin  $^1\text{H-RMN}$  sau  $^{13}\text{C-RMN}$ ) sau a eventualului raport între anomeri.

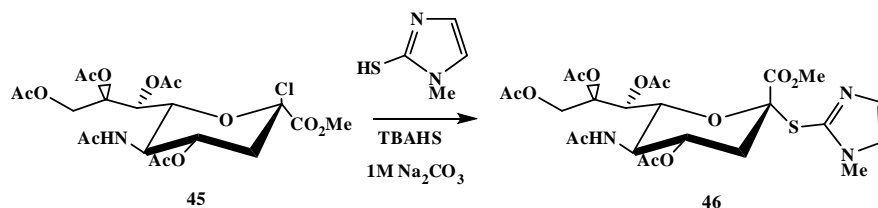
S-glicozida 2-mercaptotiazolinei a fost obținută printr-o reacție de glicozilare Fischer din tiolatul corespunzător (generat prin reacția hidrării de sodiu 60% și tiol) și  $\alpha$ -brom-2,3,4,6-tetra-O-acetil-glicopiranoză. Reacția a fost condusă în acetonitril la temperatura camerei, raportându-se randamente bune și foarte bune (schema 3)[2].





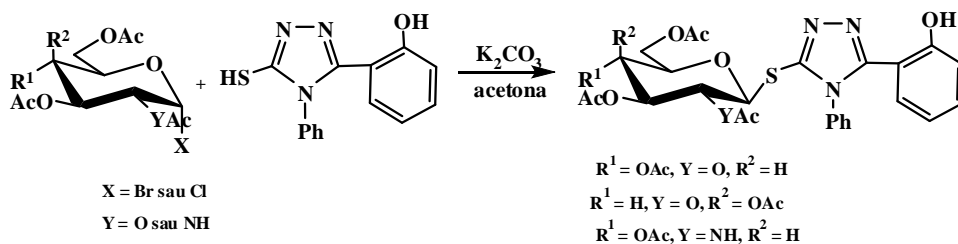
Schema 3

O serie de tioderivați ai acidului neuraminic (cu substituenți alil, para-tolil, p-metoxifenil, p-nitrofenil o-tiopiridil și metil-imidazolil) au fost obținuți printr-o reacție de glicozilare a clorurii acide a esterului metilic peracetilat al acidului neuraminic, utilizând tiolații corespunzători generați in situ (cu o soluție 1M de carbonat de sodiu). Lucrând la temperatura camerei și folosind catalizatori de transfer interfazic (TBASH) s-au obținut cu randamente foarte bune și excelente S-glicozidele corespunzătoare atât în diclormetan cât și în acetat de etil. De remarcat că autorii nu au observat formarea nici a N-glicozidelor nici a N,S-diglicozidelor (schema 4) [3].



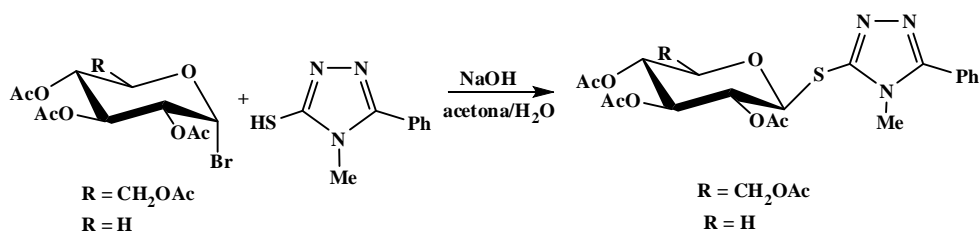
Schema 4

Reacția 3-(2-hidroxifenil)-5-mercapto-4-fenil-1,2,4-triazolului cu clorurile acide (Br sau Cl) ale glucopiranozei, galactopiranozei și N-acetilglucozaminei peracetilate a fost condusă la temperatura camerei, în acetonă, (folosind carbonat de potasiu atât pentru generarea formelor tiolat cât și pentru neutralizarea hidracizilor rezultați ca produși secundari) obținându-se β-tioglicozidele corespunzătoare [2] (schema 5). Reacțiile au fost conduse în două variante: prin metoda clasică cu agitare și folosind tehnica „click chemistry” cu ajutorul microundelor. Cu această ocazie s-a constatat că în cea de-a doua variantă randamentele sunt sensibil mai mari.



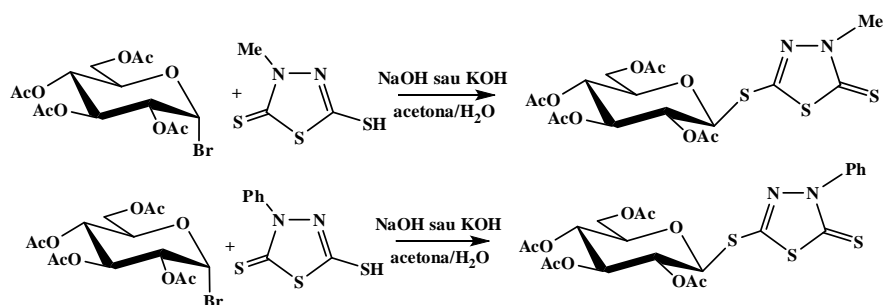
Schema 5

3-mercapto-4-metil-5-fenil-1,2,4-triazolul a fost cuplat cu bromo-aceto-halogenurile gluco- și xilopiranozei în acetonă, anionul tiolat fiind generat cu o soluție de hidroxid de sodiu 10%. Reacția a decurs cu formarea doar a S-glicozidelor corespunzătoare, nefiind menționată formarea N- sau N,S-glicozidelor. Din păcate și în acest caz nu există informații certe (lipsa datelor RMN) cu privire la geometria centrului anomic (schema 6) [4].



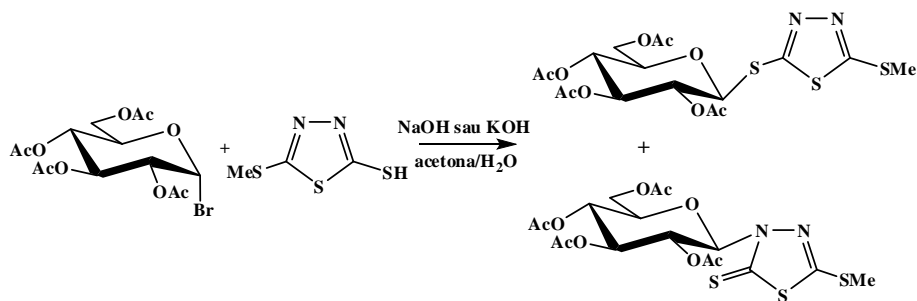
Schema 6

Sărurile de potasiu (sau de sodiu) ale 2-mercapto-4-metil- sau 2-mercapto-4-fenil-5-tiono-1,3,4-tiadiazolinei generate cu soluții de hidroxid de sodiu sau de potasiu reacționează cu acetobrom-glucopiranoza dizolvată în acetonă, la refluxul solventului, pentru a conduce la 4-metil- sau 4-fenil-5-tiono-1,3,4-tiadiazolinil-2-(tetra-O-acetil- $\beta$ -D-tiogluco-piranozidele) corespunzătoare. Nici de această dată literatura nu oferă informații cu privire la geometria centrului anomic (lipsă datele RMN)(schema 7) [5].



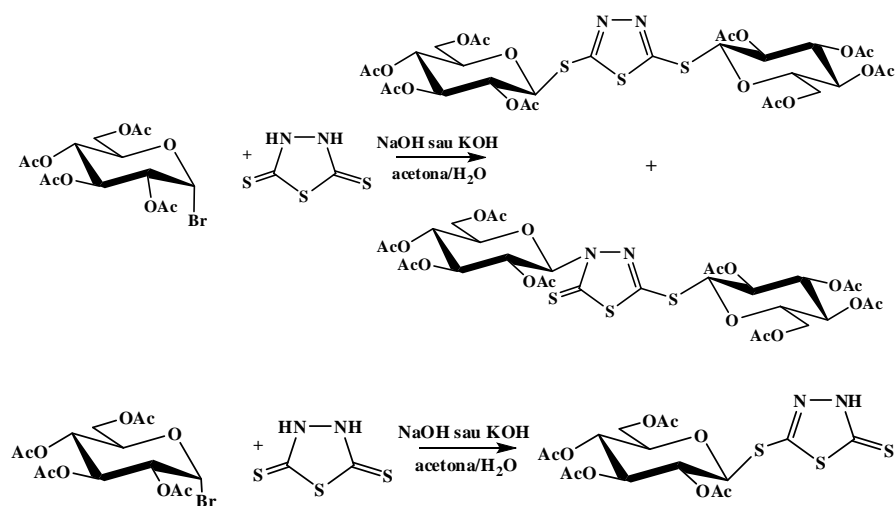
Schema 7

În condiții asemănătoare, analogul metilat al 2-mercapto-5-tiono-1,3,4-tia-diazolinei prin reacție cu aceeași acetobromohalogenură, conduce la un amestec de N- și S-glicozide [6](schema 8).



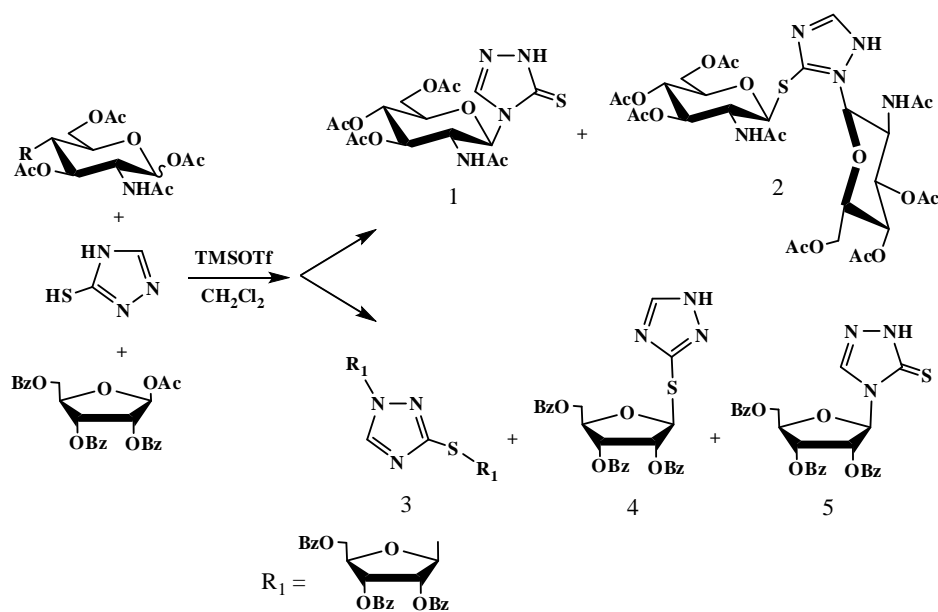
Schema 8

În cazul compușilor ditiolici (ditiione tautomerizabile), lucrându-se în condiții asemănătoare, se obțin atât ditioglicozide cât și N,S-diglicozide. Astfel, prin reacția 1,3,4-tiadiazolidin-2,5-ditionei cu acetobromoglucoză în acetonă și cu generarea formelor tiolat folosind soluții de hidroxid de sodiu sau de potasiu, se obține un amestec de S,S-, S,N- și S-glicozide. În cazul în care reacția este condusă cu aglicon în exces (2.1 moli aglicon / 1 mol bromohalogenură peracetilată) se poate obține preponderent S-glicozida (schema 9). Sursa bibliografică nu oferă informații cu privire la geometria centrului anomic [6].



Schema 9

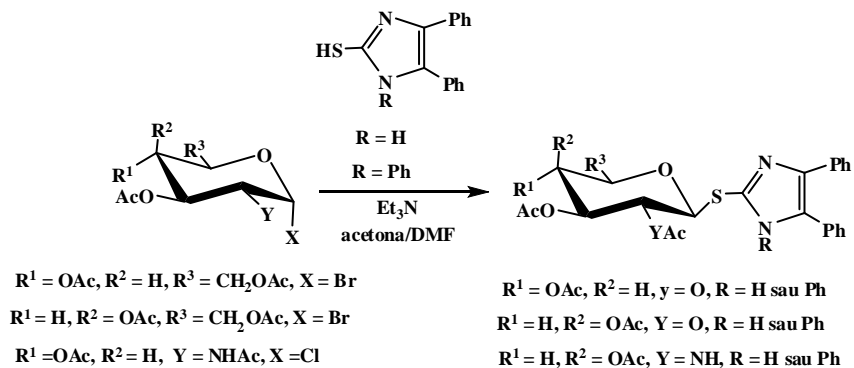
Atunci când glicozilarea 3-mercapto-1,2,4-triazolului a fost condusă în condițiile reacției Hillbert-Johnson-Bikofer, cu utilizarea triflatului de trimetilsilil ca promotor și a 2-acetamido-1,3,4,6-tetra-O-acetil-2-deoxi- $\alpha$ -D-glucopiranozei ca donor, s-a obținut un amestec de N- și N,S-glicozide. Reacția are loc în diclormetan la reflux cu formarea N-glicozidei ca produs majoritar. Geometria centrului anomic a fost complet caracterizată, atât în cazul N- cât și în cazul N,S-glicozidelor. Autorii nu au observat formarea S-glicozidei [7] (schema 10).



Schema 10

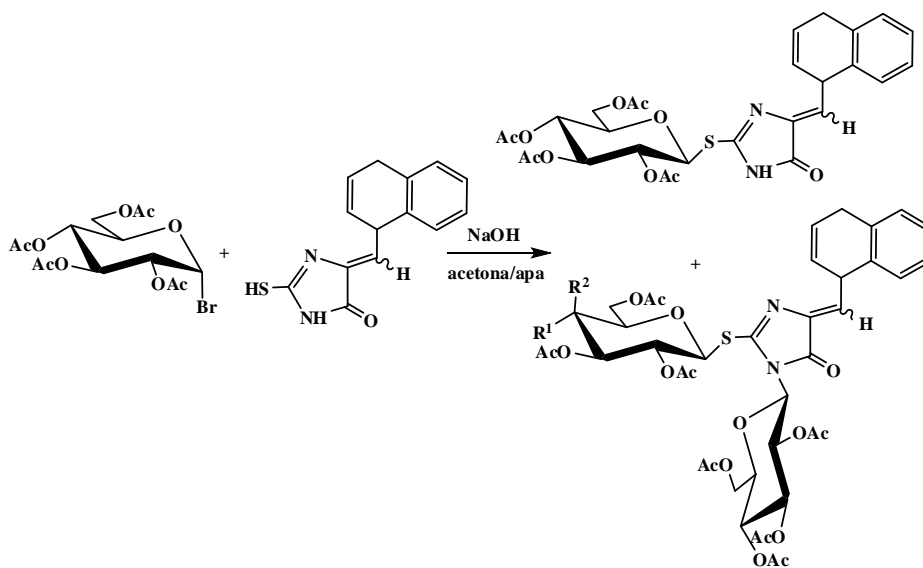
Glicozilarea 2-mercapto-4,5-difenilimidazolului și a 1-fenil-2-mercapto-4,5-difenilimidazolului cu bromurile de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -D-gluco- și  $\alpha$ -D-galacto-piranozei sau cu clorură de 2-acetamido-3,4,6-tri-O-acetil-2-deoxi- $\alpha$ -D-glucopiranoză într-un amestec de acetonă-DMF și în prezența trietilaminei, la temperatura camerei, a condus la obținerea  $\beta$ -tioglicozidelor corespunzătoare cu randamente de 74-86% [2]. Lucrând în condițiile „click chemistry” (iradiere cu

microunde) autorii raportează randamente excelente (88-94%) la timpuri de reacție de ordinul minutelor (schema 11).



Schema 11

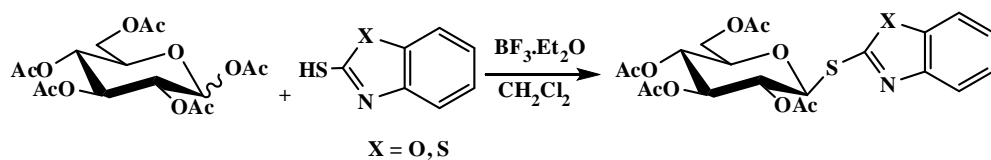
Glicozilarea 5-aryliden-2-tiohidantoinii cu acetobromoglucoză nu conduce doar la S-glicozidă, reacția având loc și la atomul de azot din poziția 3 a ciclului hidantoinic, cu formare de N,S-diglicozidă. În prezența unui exces de agent de glicozilare, diglicozida este singurul produs observat. Reacția este condusă în soluție apoasă de hidroxid de potasiu sau de carbonat de potasiu și acetonă [8]. Se presupune că reacția are loc mai întâi la atomul de sulf, apoi la atomul de azot, când acesta este disponibil, cu obținerea derivatului diglicozilat. Acesta este singurul produs obținut în prezența unui exces de agent de glicozilare. Geometria centrului anomic este complet precizată și susținută de date spectrale (schema 12) [8, 9].



Schema 12

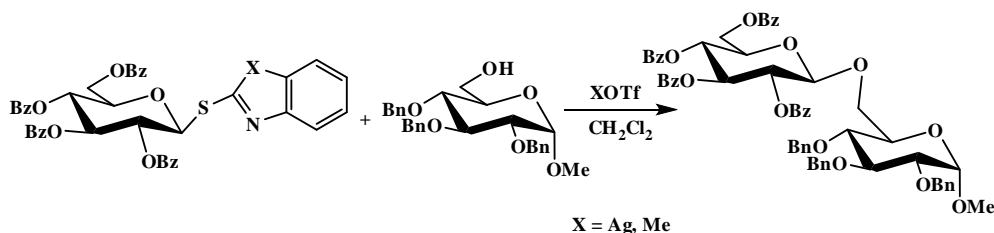
Reacția de glicozilare poate avea loc în prezența unui acid Lewis ( $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ) și dacă donorul de glicozil este un zahăr peracetilat. În cazul utilizării 2-mercapto-benzoxazolului sau 2-mercaptobenzotiazolului ca acceptori de glicozil și a  $\beta$ -D-glucozei, a  $\beta$ -D-galactozei sau a  $\alpha/\beta$ -D-manozei peracetilate ca donori, s-a obținut un amestec anomic de S-glicozide, în care predomină anomerul  $\beta$ , cu randamente bune (79%) [10, 11] (schema 13). Totuși autorii consideră că aceste

condiții nu conduc la obținerea unor rezultate satisfăcătoare, deoarece este necesară utilizarea unui mare exces de catalizator și de acceptor iar reacția necesită timpi mai lungi pentru definitivare comparativ cu metoda clasică (acetohalogenurile glicozidelor ca donori de glicozil, în prezența  $K_2CO_3$  în acetonă anhidră).



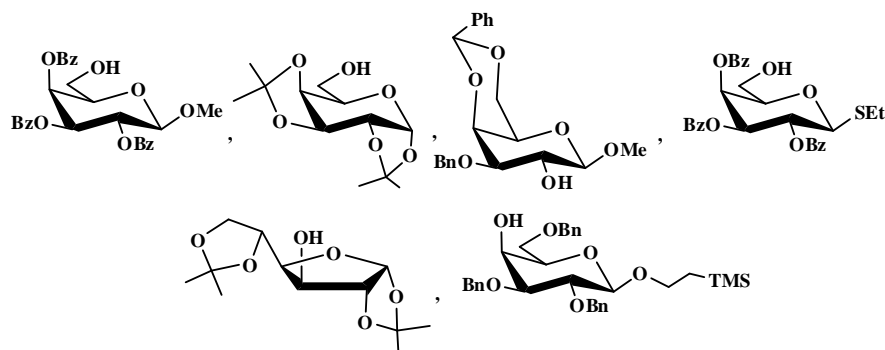
Schema 13

S-glicozidele mercaptobenzoxazolului astfel sintetizate sunt de mare interes practic, ele putând acționa ca donori excelenți de glicozil în sinteze de oligozaharide, gruparea partantă (mercaprobenzoxazolil, denumită în literatură SBox) fiind activată selectiv cu triflat de argint sau cu triflat de metil (schema 14). Reacțiile decurg în diclormetan anhidru, proaspăt distilat, sub atmosferă de gaz inert, cu obținerea în exclusivitate a  $\beta$ -dizaharidelor, la temperatura camerei. În unele situații, când geometria grupei protectoare participante de la C2 este axială (cazul manozei), se obțin în exclusivitate  $\alpha$ -dizaharidele. Reacția este extrem de sensibilă la prezența urmelor de apă, de aceea în toate cazurile se folosește sita moleculară 3 Å.



Schema 14

Un avantaj al utilizării unor astfel de donori de glicozil activați selectiv îl constituie diversitatea de acceptori ce poate fi implicată în procesul de glicozilare, unii dintre ei fiind prezentați în schema 15.

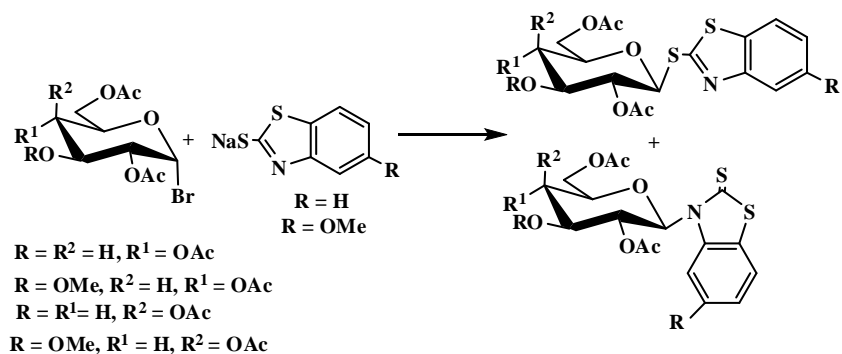


Schema 15

Datorită rezultatelor încurajatoare obținute în reacții de obținere a unei mari diversități de oligozaharide utilizând tioglicozide de mercaptobenzoxazoli sau de mercaptobenzotiazoli ca donori de glicozil, s-a încercat diversificarea gamei de compuși ce pot avea același potențial, poate chiar îmbunătățit. Astfel s-a încercat substituirea ciclului aromatic al grupării partante cu grupări

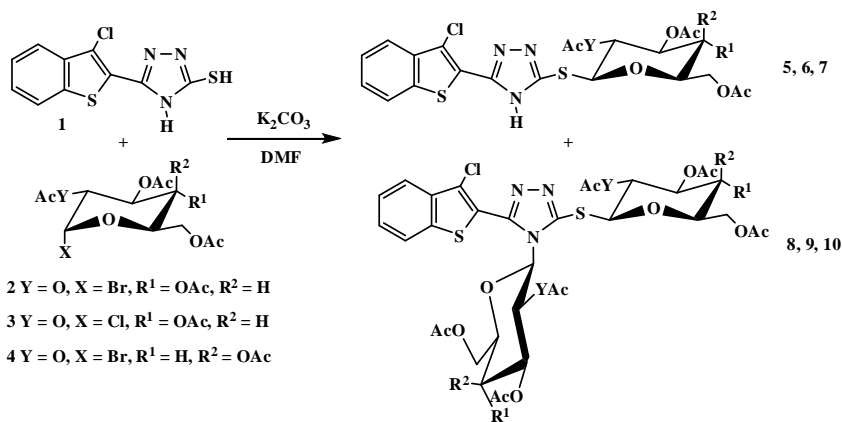
atrăgătoare de electroni, care să faciliteze activarea selectivă. Sinteza acestor compuși se efectuează prin metoda clasică a tratării acetobromoglicozidei cu tiolul de interes, fie ca atare, fie sub formă de sare de metal alcalin [12](schema 16). Nu în toate cazurile însă se obține doar S-glicozida de interes, putându-se forma și N-glicozida ca produs secundar.

Pentru a se favoriza formarea S-glicozidei, mărindu-se astfel eficiența reacției de obținere a unui donor de glicozil ce va fi ulterior implicat în altă secvență de reacții, mercaptobenzotiazolii sau mercaptobenzotiazolii substituiți au fost transformați mai întâi în săruri de sodiu, prin tratare cu hidrură de sodiu în acetonitril anhidru. Această sare a fost apoi angajată în reacția cu acetobromoglicozidă, obținându-se β-S-glicozida ca produs majoritar și β-N-glicozida ca produs secundar [13]. Acest tip de abordare s-a încercat pentru glicozilarea bromurii de glucozil și de galactozil în prezența a diferite variante de grupe protectoare (schema 16).



Schema 16

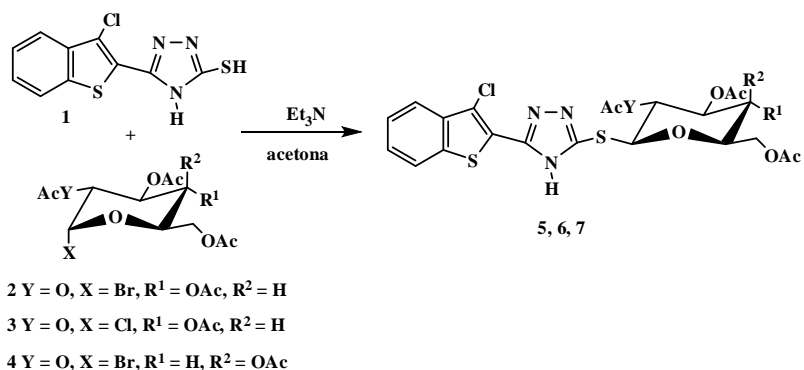
Cea mai nouă indicație bibliografică cu privire la prepararea de glicozide ale mercaptotriazolilor substituiți folosește iradierea cu microunde a amestecului de reacție, fapt ce evită utilizarea de cantități mari de solvenți și mărește viteza reacțiilor [14]. Reacțiile asistate de microunde constituie o tehnologie tot mai căutată în chimia organică, deoarece sintezele experimentale și chiar cele industriale devin astfel mai eficiente și mai ecologice. S-au ales din metodele clasice de sinteză două variante în scopuri comparative: cuplarea 5-(3-clorobenzo[b]tiazol-2-il)-4H-1,2,4-triazol-3-tiolului cu halogenuri de glicozil în prezență de  $K_2CO_3$  în DMF (schema 17) și aceeași cuplare în prezență de trietilamină în acetonă (schema 18).



Schema 17

În cazul reacției catalizate de  $K_2CO_3$  se constată că nu se obțin doar S-glicozidele dorite, ci și S,N<sup>4</sup>-diglicozide. În procedeul clasic, timpul necesar completării reacției este de 2 zile, iar în cazul iradierii cu microunde sunt necesare doar 5 minute.

În cazul cuplării acetohalogenurilor de glicozil cu mercaptotriazoli substituiți în prezență de trietilamină se obțin selectiv S-β-glicozidele dorite (schema 18). Timpul necesar în procedeul clasic este de 4 ore, iar în cazul iradierii cu microunde de 3-4 minute.

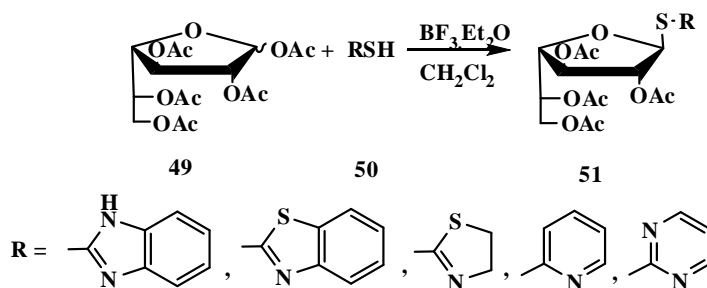


Schema 18

Se constată că sub influența microundelor randamentul reacțiilor de cuplare în ambele cazuri crește și timpul necesar desăvârșirii lor se scurtează simțitor, fără însă a fi influențată în vreun fel regioselectivitatea procesului.

### II.1.2. Tioglicozide ale mercapto-heterociclicurilor cu azot în seria furanozică

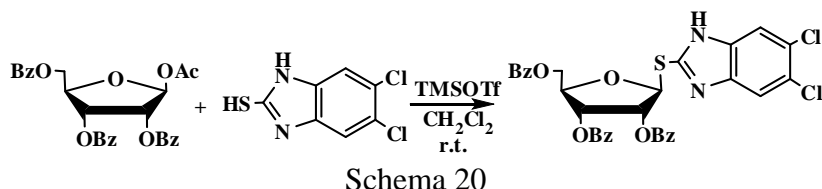
Metoda de obținere de tioglicozide prin tratarea glicozidei complet acetilate cu tioli heterociclici în prezența unui acid Lewis ( $BF_3 \cdot Et_2O$ ) s-a aplicat și ciclicurilor furanozice ale zaharurilor. În cazul penta-O-acetil-D-galactofuranozei, s-au obținut selectiv β-tiofuranozide cu randamente de peste 50% pentru o gamă largă de tioli, precum 2-mercaptobenzimidazol, 2-mercaptobenzotiazol, 2-mercaptotiazolină, 2-mercaptopiridină sau 2-mercaptopirimidină [15](schema 19). Prin analize atente <sup>1</sup>H-RMN autorii au putut stabili raportul molar optim tiol : acid Lewis (1:3) ce trebuie adăugat în reacție pentru deplasarea echilibrului tautomic tiol – tionă al acceptorilor de glicozil menționați mai sus aflați în soluție spre forma tiol, prin complexare. Acidul Lewis mai joacă un rol important și în activarea grupării protectoare acetat din poziția anomică a zaharului.



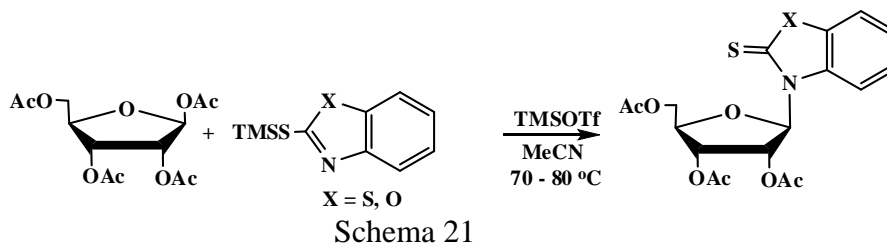
Schema 19

Această abordare s-a testat și pentru alte cicluri furanozice, în aceleași condiții, obținându-se randamente de peste 50% în cazul  $\beta$ -tio-glucofuranozei și de peste 70% în cazul  $\alpha$ -tio-manofuranozei.

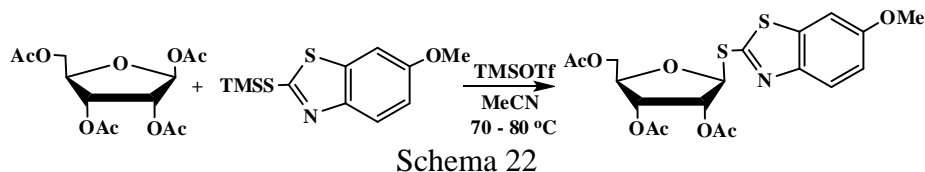
Tioglicofuranozidele se pot obține și prin alte metode decât cele menționate mai sus, cu randamente foarte bune. Interesul major în orice reacție de glicozilare este obținerea selectivă a compusului de interes. Când cuplarea 5,6-dicloro-2-mercapto-benzimidazolului cu 1-acetil-2,3,5-tri-O-benzil- $\beta$ -ribofuranozida s-a efectuat în prezență de TMSOTf în diclormetan la temperatura camerei, randamentul în  $\beta$ -tioribofuranozidă este foarte bun [16](schema 20).



Mercaptobenzoxazolii și mercaptobenziazolii au fost glicozilați într-o abordare originală [13]. Pentru favorizarea formării exclusive a N-glicozidei, s-a încercat împiedicarea tautomerizării tion-tiolice prin înlăturarea hidrogenului și înlocuirea lui cu gruparea trimetilsilil. Folosind ca promotor triflatul de trimetilsilil (TMSOTf) mercaptobenzoxazolii și mercaptobenziazolii trimetilsililați au fost glicozilați cu pentaacetilribofuranoză, în acetonitril la 70 - 80 °C timp de o oră, obținându-se în exclusivitate N-glicozide. Argumente spectrale (RMN, DFQ-COSY și NOESY) au fost aduse pentru confirmarea legăturii C-N și a geometriei centrului anomic (schema 21).

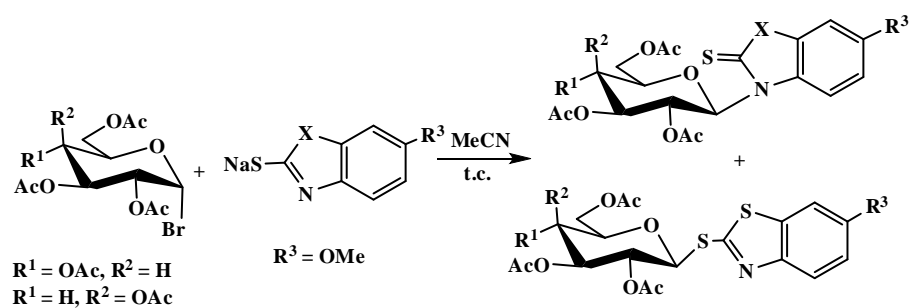


În mod cu totul neașteptat, atunci când s-a folosit ca acceptor trimetilsilil derivatul mercaptobenziazolului substituit cu o grupare metoxi, în aceleași condiții de glicozilare ca cele menționate mai sus, se obține exclusiv S-glicozidă [13](schema 22). Nu există nici un fel de discuție privind influența grupării metoxi asupra dirijării situsului de glicozilare, argumentele spectrale invocate fiind suspecte.



Atunci când s-a lucrat cu donori de glicozil precum bromura de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -glucopiranoză respectiv bromura de 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\alpha$ -galactopiranoză și folosind ca acceptori forma tiolat a mercaptobenzoxazolilor și mercaptobenziazolilor (generați prin reacția cu hidru de sodiu in situ), se obțin amestecuri de N- și S-glicozide (schema 23).





Schema 23

Din acest studiu de literatură reiese că se raportează puține metode pentru sinteza de S-glicozide ale mercapto-heterociclurilor cu azot, preferându-se glicozilarea donorului halogenat în mediu bazic. În aceste condiții se obțin de obicei amestecuri de N- și S-glicozide, cu randamente în general bune. În acest context, metoda de obținere a S-glicozidelor 1,2,4-triazolilor-5-substituiți prin glicozilarea glucozei peracetilate prin metoda Ferrier reprezintă o noutate.

## II.2. PARTE EXPERIMENTALĂ

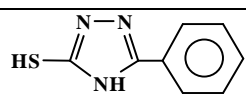
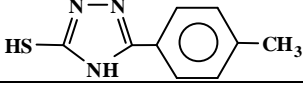
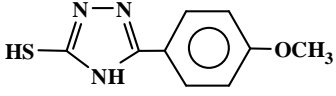
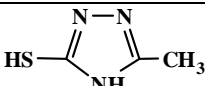
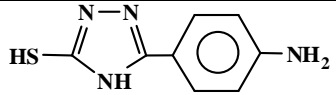
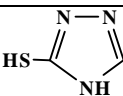
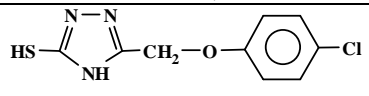
Una din problemele care apar în sinteza S-glicozidelor cu aglicon heterociclic ce permite tautomerie tiol-tionă este aceea a compatibilizării acceptorului (tiocompus) cu donorul de glicozil. Dacă se încearcă obținerea țintită a S-glicozidei, cea mai comodă cale este de a genera tiolatul (de sodiu sau potasiu) mercaptoderivatului; în acest caz singura problemă o constituie găsirea unui solvent compatibil atât pentru donor (de regulă o acetohalogenură) cât și pentru acceptor (tiolat de sodiu sau de potasiu).

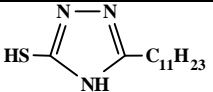
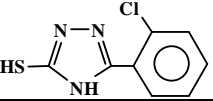
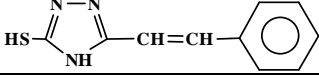
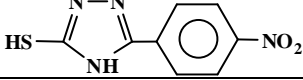
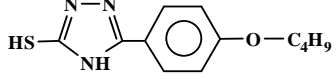
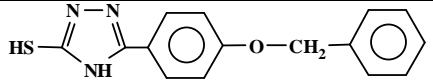
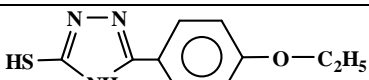
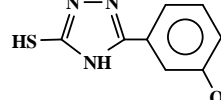
Atunci când glicozilarea 3-mercapto-1,2,4-triazolului a fost condusă în condițiile reacției Hillbert-Johnson-Bikofer, cu utilizarea triflatului de trimetilsilil ca promotor, s-a obținut un amestec de N- și N,S-glicozide (capitolul II.1.1, schema 10). Reacția are loc în diclormetan la reflux cu formarea N-glicozidei ca produs majoritar; autorii nu au observat formarea S-glicozidei [7], motiv pentru care această strategie nu ni s-a părut viabilă pentru încercarea de obținere de S-glicozide ale unor compuși similari.

În urma studierii literaturii, s-a constatat că au fost sintetizate S-glicozide pornind de la zaharuri peracetilate cu 2-mercapto-benzooxazol sau 2-mercaptobenzotiazol, folosind drept catalizator o soluție de trifluorură de bor eterată (schema 13)[10, 11]. În acest caz însă autorii raportau randamente scăzute, dar o selectivitate mare, S-glicozidele obținute având o configurație  $\beta$  la centrul anomic. Pornind de la această premiză și luând în considerare că pentaacetilglucoza se obține mai ușor decât acetohalogenura glucozei, am încercat aplicarea acestui procedeu la obținerea de S-glicozide ale 3-mercapto-1,2,4-triazolilor-5-substituiți, materie primă obținută prin amabilitatea catedrei de chimie organică a facultății de inginerie chimică, în special a domnului șef de lucrări dr.ing. Vasile Bercean. Această metodă de obținere a S-glicozidelor 3-mercapto-1,2,4-triazolilor-5-substituiți nu a mai fost încercată de alte colective de cercetare.

Compușii utilizați drept agliconi în această teză sunt prezentați în **tabelul 1**.

**Tabelul 1.** Agliconi încercați în reacțiile de glicozilare

Aglicon	Denumire	Denumire utilizată în continuarea tezei
	3-mercapto-5-fenil-1,2,4-triazol	Ber1
	3-mercapto-5-para-tolil-1,2,4-triazol	Ber2
	3-mercapto-5-para-metoxifenil-1,2,4-triazol	Ber3
	3-mercapto-5-metil-1,2,4-triazol	Ber4
	3-mercapto-5-para-aminofenil-1,2,4-triazol	Ber5
	3-mercapto-1-2-4-triazol	Ber6
	3-mercapto-5-(para-cloro-fenoximetil) - 1,2,4-triazol	Ber7

	3-mercapto-5-undecil-1,2,4-triazol	Ber8
	3-mercapto-5-orto-clorofenil-1,2,4-triazol	Ber9
	3-mercapto-5-stiril-1,2,4-triazol	Ber10
	3-mercapto-5-p-nitrofenil-1,2,4-triazol	Ber11
	3-mercapto-5-(para-butoxifenil)-1,2,4-triazol	Ber12
	3-mercapto-5-(fenil-para-metoxifenil)-1,2,4-triazol	Ber13
	3-mercapto-5-(para-etoxifenil)-1,2,4-triazol	Ber14
	3-mercapto-5(meta-etoxifenil)-1,2,4-triazol	Ber15

În cazul compușilor Ber5, Ber6, Ber8, Ber10 și Ber11 reacția de glicozilare nu a reușit.

**Tabelul 2.** Reactivi și rapoarte molare în reacția generală de glicozilare

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
Pag	390	0.50		1.2	1
Ber				1.92	1.5
BF <sub>3</sub> .Et <sub>2</sub> O	141.93	0.852	0.754	6.4	5 (ρ =1.13 g/mL)
DCM			5		

### Protocol general de obținere a tioglicozidelor 5-mercapto-1,2,4-triazolilor substituiți [17, 24-30]:

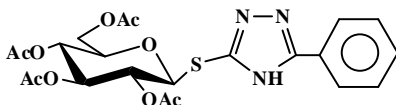
Într-un balon de 50 mL prevăzut cu agitator magnetic se dizolvă 1.2 mmoli pentaacetilglucoză în 5 mL diclorometan. Se adaugă apoi sub agitare 1.92 mmoli (1.5 echivalenți) 3-mercapto-1,2,4-triazol 5-substituit\* (Ber în tabelul 2). Balonul este apoi închis cu un septum prevăzut cu priză la argon sau azot și amestecul de reacție se răcește în baie de gheață. Se adaugă în picături și sub agitare puternică 6.4 mmoli (5 echivalenți) soluție de BF<sub>3</sub>.Et<sub>2</sub>O proaspăt distilată. După 3 ore amestecul de reacție devine limpede și ajunge la temperatura camerei. Agitarea masei de reacție se continuă până când controlul CSS (Tol:AcOEt = 1:1) indică dispariția pentaacetilglucozei din masa de reacție. Din nou se răcește amestecul la 0 °C și se stopează reacția prin adăugarea a 1 mL trietilamină sub agitare intensă. Apoi masa de reacție se diluează cu 50 mL cloroform și faza organică se spală cu repetat cu soluție 20% NaHCO<sub>3</sub> (în scopul îndepărtării excesului de aglicon). Componenta organică separată se spală cu apă, se separă din nou, se usucă peste sulfat de sodiu anhidru, se filtrează și se concentrează la sec la presiune scăzută (rotavapor). Spuma astfel obținută se supune purificării prin cromatografie

flash (Tol:AcOEt), iar produsul pur obținut se recristalizează din metanol absolut, în scopul investigărilor structurale.

\* înainte de introducerea pentaacetilglucozei și a 3-mercapto-1,2,4-triazolului 5-substituit în balonul de reacție, aceștia se usucă sub vid la temperatura de 50 °C timp de minimum 4 ore.

## II.2.1. Caracteristici ale S-glicozidelor protejate sintetizate

### Ber1Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5 -fenil-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:1**

**Randament** = 81%

**P.t. (°C) = 144-146;**

**R<sub>f</sub>** = 0.33 (Tol:AcOEt = 1:1)

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> = 508**

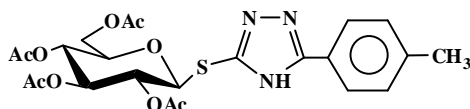
**U.V.** λ<sub>max</sub> = 245.5 nm, ε<sub>max</sub> = 17364

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 500 s, 524 s, 580 s, 612 s, 622 s, 692 m, 720 s, 780 s, 920 m, 980 m, 1046 f.i., 1084 m, 1226 f.i., 1382 m, 1466 m, 1704 i, 1749 f.i., 2932 m, 3240 m, 3412 m.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.97 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.0, J<sub>10,12</sub>=J<sub>14,12</sub>= 1.6, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.52 (m, 3H, H<sub>11</sub>, H<sub>12</sub>, H<sub>13</sub>); 5.61 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.1, H<sub>1</sub>); 5.41 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub> = J<sub>3,4</sub>= 9.4 H<sub>3</sub>); 5.06 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=10.1, J<sub>2,3</sub>=9.4, H<sub>2</sub>); 4.97 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>= 9.4, H<sub>4</sub>); 4.14 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.2, J<sub>6a,5</sub>=5.2, H<sub>6a</sub>); 4.09 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.99 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.2, J<sub>6a,5</sub> =1.6, H<sub>6b</sub>); 1.99, 1.98, 1.94, 1.92 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 170.20; 169.77; 169.54; 169.37 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO) 132.89 (1C, C<sub>9</sub>); 130.56 (1C, C<sub>12</sub>); 129.24 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 126.19 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 82.53 (1C, C<sub>1</sub>); 74.90 (1C, C<sub>5</sub>); 73.09 (1C, C<sub>3</sub>); 70.08 (1C, C<sub>2</sub>); 68.02 (1C, C<sub>4</sub>); 61.87 (1C, C<sub>6</sub>); 20.55; 20.50; 20.42; 20.39 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO)

### Ber2Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-para-tolil-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 2:1**

**Randament** = 71%.

**P.t. (°C) = 140-142**

**R<sub>f</sub>** = 0.406 (Tol:AcOEt = 1:1)

**(-)ESI-HCIT-MS: m/z = 520.56 [M-H]<sup>-</sup>**

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 257.5, 28920

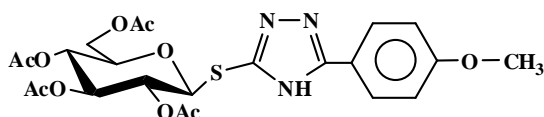
**I.R.**(KBr, cm<sup>-1</sup>): 604 s, 740 s, 826 m, 980 m, 1046 i, 1076 m, 1084 m, 1226 f.i., 1250 f.i., 1380 m, 1464 m, 1486 s, 1500 m, 1540 s, 1620 s, 1704 i, 1750 f.i., 2928 m, 3232 m, 3408 m;

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** 7.90 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8Hz, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.25 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>= J<sub>13,14</sub>=8Hz, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.29 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.2Hz, H<sub>3</sub>); 5.23-5.19 (bp, 2H, NH, H<sub>1</sub>); 5.14 (dd, 1H,

$J_{4,5}=10.1\text{Hz}$ ,  $J_{43}=9.2\text{Hz}$ ,  $H_4$ ); 5.11 (dd, 1H,  $J_{2,1}=J_{2,3}=9.2\text{Hz}$ ,  $H_2$ ); 4.25-4.11 (m, 2H,  $H_{6a}$ ,  $H_{6b}$ ); 3.81 (ddd, 1H,  $J_{54}=10.1\text{Hz}$ ,  $J_{5,6a}=2.7\text{Hz}$ ,  $J_{5,6b}=4.7\text{Hz}$ ,  $H_5$ ); 2.39 (s, 3H,  $C_6H_4CH_3$ ); 2.071-2.017 (4s, 12H,  $4xCH_3CO$ );

$^{13}C\text{-RMN}$  (75 MHz,  $CDCl_3$ ): 171.04, 170.11, 169.61, 169.40 (4C,  $4xCH_3CO$ ); 149.37 (1C, C7); 140.35 (1C, C8); 129.50 (2C, C10, C14); 126.31 (2C, C11, C13); 83.25 (1C, C1); 76.10 (1C, C5); 73.55 (1C, C3); 69.94 (1C, C2); 68.15 (1C, C6); 68.01 (1C, C4); 21.42 (1C,  $C_6H_4CH_3$ ); 21.38, 20.68, 20.59, 20.53 (4C,  $4xCH_3CO$ );

### Ber3Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para metoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 80%

**R<sub>f</sub>** = 0.46 (Tol:AcOEt = 1:2)

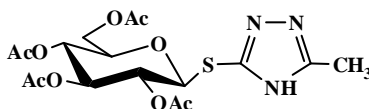
**U.V.** ( $\lambda_{\text{max}}$  = 266.5 (nm),  $\epsilon_{\text{max}}$  = 27038

**I.R.**( $\text{cm}^{-1}$ ): 837 m, 1046 i, 1084 m, 1222 f.i., 1380 m, 1704 m, 1750 f.i., 3436 m.

**$^1\text{H-RMN}$  (300MHz,dms $o$ -d $^6$ , $\delta$ (ppm),J(Hz)):** 7.92 (d, 2H,  $J_{10,11}=J_{14,13}= 8.9$ ,  $H_{10}$ ,  $H_{14}$ ); 7.09 (d, 2H,  $J_{11,10}=J_{13,14}= 8.9$ ,  $H_{11}$ ,  $H_{13}$ ); 5.63 (d, 1H,  $J_{1,2}=10.2$ ,  $H_1$ ); 5.43 (dd, 1H,  $J_{3,2}=J_{3,4}=9.4$ ,  $H_3$ ); 5.06 (dd, 1H,  $J_{2,1}=10.2$ ,  $J_{2,3}=9.4$   $H_2$ ), 4.97 (dd, 1H,  $J_{43}=9.4$ ,  $J_{4,5}=9.7$ ,  $H_4$ ); 4.17 (dd, 1H,  $J_{6a,5}=5.1$ ,  $J_{6a,6b}=11.5$ ,  $H_{6a}$ ); 4.10 (m 1H,  $H_5$ ); 3.98 (dd, 1H,  $J_{6b,5}=1.8$ ,  $J_{6b,6a}=11.5$ ,  $H_{6b}$ ); 3.82 (s, 3H,  $OCH_3$ ); 2.00, 1.99, 1.95, 1.93 (4s, 12H,  $4xCH_3CO$ ).

**$^{13}C\text{-RMN}$  (75 MHz, DMSO-d $^6$ ,  $\delta$ (ppm)):** 169.92, 169.49, 169.26, 169.09 (4C, 4 x  $CH_3CO$ ); 127.63 (2C, C10, C14); 114.40 (2C, C11, C13); 160.74 (1C, C12); 155.09 (1C, C8); 119.13 (1C, C9); 82.40 (1C, C1); 74.63 (1C, C5); 72.89 (1C, C3); 69.96 (1C, C2); 67.86 (1C, C4); 61.71 (1C, C6); 55.31 (1C,  $OCH_3$ ); 20.38, 20.34, 20.25, 20.19 (4C, 4x  $CH_3CO$ )

### Ber4Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-metil-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 75,40%

**R<sub>f</sub>** = 0.25 (Tol:AcOEt = 1:2)

**U.V.**( $\lambda_{\text{max}}$  = 234 nm,  $\epsilon_{\text{max}}$  = 1870

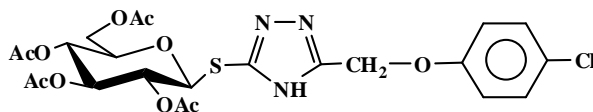
**I.R.**( $\text{cm}^{-1}$ ): 326 s, 600 m, 824 s, 916 m, 1042 f.i., 1228 f.i., 1372 i, 1430 m, 1552 s, 1640 s, 1754 f.i., 2932 m, 3412 m.

**$^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO-d $^6$ ,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 13.81 (bs, 1H, NH); 5.54 (d, 1H,  $J_{1,2}=10.2$ ,  $H_1$ ); 5.39 (dd, 1H,  $J_{3,2}=J_{3,4}=9.4$ ,  $H_3$ ); 5.00 (dd, 1H,  $J_{2,1}=10.2$ ,  $J_{2,3}= 9.4$ ,  $H_2$ ); 4.95 (dd,  $J_{4,3}=9.4$ ,  $J_{4,5}=9.7$ ,

H<sub>4</sub>); 4.15 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.2, J<sub>6a,5</sub>=5.0, H<sub>6a</sub>); 4.07 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.95 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.2, J<sub>6b,5</sub>=2.1, H<sub>6b</sub>); 2.33 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 1.99, 1.98, 1.97, 1.94 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm)):** 169.69, 169.20, 168.99, 168.80 (4C, 4x CH<sub>3</sub>CO); 82.16 (1C, C1); 74.25 (1C, C5); 72.62 (1C, C3); 69.78 (1C, C2); 67.55 (1C, C4); 61.40 (1C, C6); 20.19, 20.10, 20.06, 20.00 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 11.41 (CH<sub>3</sub>).

## Ber7Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetyl-β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-clorofenoximetil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:1**

**Randament = 73%**

**P.t. (°C) =116-118;**

**R<sub>f</sub> = 0.4 (Tol:AcOEt = 1:1)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> = 572.5**

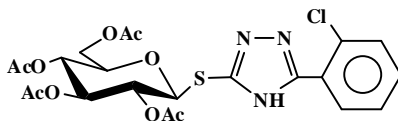
**U.V.** (λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 227.5, 18460

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 516 s, 824 m, 1038 i, 1226 f.i., 1370 m, 1492 i, 1754 f.i.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.36 (d, 2H, J<sub>13,14</sub>=J<sub>11,10</sub>=9, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.08 (d, 2H, J<sub>14,13</sub>=J<sub>10,11</sub>=9, H<sub>14</sub>,H<sub>10</sub>); 5.17 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>O); 5.57 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.2, H<sub>1</sub>); 5.41 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>= 9.4, H<sub>3</sub>); 5.02 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.4, J<sub>2,1</sub>=10, 2H<sub>2</sub>); 4.96 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>= J<sub>4,5</sub>=9.4, H<sub>4</sub>); 4.14 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=5.1, H<sub>6a</sub>); 4.08 (m, H<sub>5</sub>); 3.94 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=1.8, H<sub>6b</sub>); 1.99, 1.98, 1.96, 1.95 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm)):** 170.47, 170.00, 169.78, 169.62 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 157.10 (1C, C9); 129.82 (2C, C11, C13); 125.57 (1C, C12); 117.13 (2C, C10, C14); 82.84 (1C, C1); 75.15 (1C, C5); 73.34 (1C, C3); 70.51 (1C, C2); 68.31 (1C, C4); 66.89 (OCH<sub>2</sub>); 62.17 (1C, C6); 20.95, 20.88, 20.83, 20.80 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO).

## Ber9Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(orto-cloro-fenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 73%;

**R<sub>f</sub>** = 0.42 (Tol:AcOEt = 1:1)

**FC(SiO<sub>2</sub>)** Tol:AcOEt=1.2:1

(-)ESI-QTOF MS (m/z) = 540.62 [M-H]<sup>-</sup>

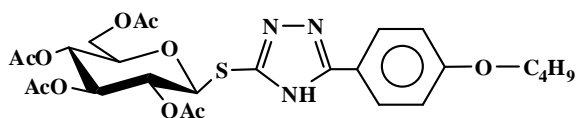
**U.V.** ( $\lambda_{\max}$ (nm),  $\epsilon_{\max}$ , MeOH): 225.40 (6600)

**I.R.**(KBr, cm<sup>-1</sup>): 564, 604, 744, 770, 916, 982, 1048, 1226, 1368, 1396, 1452, 1530, 1608, 1752, 2924, 3012, 3432

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 8.21 (m, 1H, H<sub>11</sub>); 7.51 (m, 1H, H<sub>14</sub>); 7.42 (m, 2H, H<sub>12</sub>, H<sub>13</sub>); 5.37 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.1, H<sub>1</sub>); 5.33 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.2, H<sub>3</sub>); 5.21 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=9.2, J<sub>2,1</sub>=10.1, H<sub>2</sub>); 5.16 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=9.2, J<sub>4,5</sub>=10.0, H<sub>4</sub>); 4.26 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.4, J<sub>6a,5</sub>=4.6, H<sub>6a</sub>); 4.19 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.4, J<sub>6a,5</sub>=2.6, H<sub>6b</sub>); 3.86 (ddd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=4.6, J<sub>5,6b</sub>=2.6, J<sub>5,4</sub>=10, H<sub>5</sub>); 2.08, 2.06, 2.04, 2.03 (4s, 12H, 4xCOCH<sub>3</sub>);

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm)):** 169.34, 169.42, 170.08, 170.73 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 155.41 (1C, C7 sau C8), 155.00 (1C, C8 sau C7); 131.50 (1C, C9); 131.46, 131.30, 130.60, 127.37, (4C, C11, C12, C13, C14); 126.03 (1C, C10); 83.34 (1C, C1); 76.17 (1C, C5); 73.76 (1C, C3); 69.84 (1C, C2); 68.06 (1C, C4); 61.89 (1C, C6); 20.71, 20.65, 20.52, 20.50 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO)

## Ber12Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-butoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 74%

**R<sub>f</sub>** = 0.53 (Tol:AcOEt=1:1)

**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm),  $\epsilon_{\max}$ , MeOH) = 270.5, 24888

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>):1042.34 m, 1227.47 i, 1252.53 i, 1373.07 m, 1615.09 s, 1747.19 i, 2875.34 s, 2957.3 s, 3162.69 s, 3409.53 s

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 7.90 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.9, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.07 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.9, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.63 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.2, H<sub>1</sub>); 5.43 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.5, H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=10.2, J<sub>2,3</sub>=9.5, H<sub>2</sub>); 4.97 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.5, H<sub>4</sub>); 4.16 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=5.2, H<sub>6a</sub>); 4.11 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 4.03 (t, 2H, J=7.3 OCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.98 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>= 2.2, H<sub>6b</sub>); 2.00,

**FC(SiO<sub>2</sub>)** Tol:Ac OEt =2:1

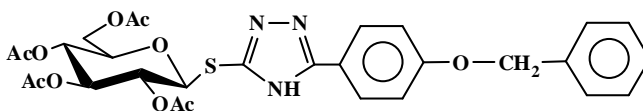
**P.t.** (°C) = 92-94

(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup>= 580

1.99, 1.95, 1.93 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.72 (qv, 2H, J=7.3, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.44 (sx, 2H, J=7.3, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 0.94 (t, 3H, J=7.3, OCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 169.91, 169.47, 169.25, 169.08 (4C, 4 x CH<sub>3</sub>CO); 160.11 (1C, C12); 155.71 (1C, C8); 127.61 (2C, C10, C14); 114.84 (2C, C11, C13); 119.08 (1C, C9); 82.38 (1C, C1); 74.62 (1C, C5); 72.89 (1C, C3); 69.95 (1C, C2); 67.86 (1C, C4); 61.70 (1C, C6); 67.33 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 30.61 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 20.45, 20.38, 20.33, 20.25 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 18.67 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 13.65 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>).

### Ber13Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-benziloxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect;** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 42%

**R<sub>f</sub>** = 0.48 (Tol:AcOEt=1:1)

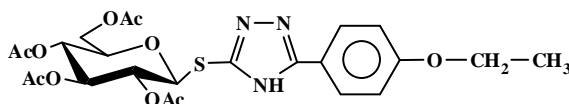
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH) = 266.5, 22564

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 838.88 s, 912.15 s, 1043.3 m, 1227.47 i, 1375 s, 1501.31 s, 1615.09 s, 1747.19 i, 3181 s, 3419.17 s, 3735.44 s

**<sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz), T=373°K):** 14.32 (bs, 1H, NH); 7.92 (d, 2H, J<sub>14,13</sub>=J<sub>10,11</sub>=8.9, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.49-7.31 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.16 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.3, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.60 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.1, H<sub>1</sub>); 5.39 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.3, H<sub>3</sub>); 5.19 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph); 5.07 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=10.1, J<sub>2,3</sub>=9.3, H<sub>2</sub>); 4.98 (dd, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.4, H<sub>4</sub>); 4.15 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.6, J<sub>6a,5</sub>=4.9, H<sub>6a</sub>); 4.09 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 4.02 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.6, J<sub>6b,5</sub>=2.2, H<sub>6b</sub>); 2.00, 1.99, 1.95, 1.93 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO)

**<sup>13</sup>C-RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 69.91, 169.48, 169.25, 169.08 (4C, 4 x CH<sub>3</sub>CO); 160.43 (1C, C12); 121.23 (1C, C9); 136.64 (1C, Cq, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 128.43 (2C, m, m'<sup>o</sup>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 127.92 (2C, C10, C14); 127.77 (2C, o, o'<sup>o</sup>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 127.64 (C-4''); 115.27 (2C, C11, C13); 82.38 (1C, C1); 74.63 (1C, C5); 72.89 (1C, C3); 69.94 (1C, C2); 67.86 (1C, C4); 61.70 (1C, C6); 69.34 (1C, OCH<sub>2</sub>); 20.38, 20.33, 20.30, 20.25 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO);

### Ber14Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-etoxyfenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 90%

**R<sub>f</sub>** = 0.36 (Tol:AcOEt=1:1)

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH): 261.0; 20300

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:Ac OEt = 1:1**

**P.t.** (°C) = 160-162;

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> = 552

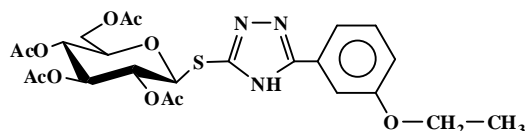


**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 609.39 s, 834.06 s, 919.91 s, 1044.26 i, 1223.61 f.i., 1248.68 f.i. 1377.89 m, 1501.31 m, 1617.02 s, 1701.87 m, 1749.12 f.i., 2939.95 s, 2984.3 s, 3210.9 s, 3414.35 s, 3734.48 s

**<sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 14.53 (bs, 1H, NH); 7.90 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.8, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.06 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.8, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.63 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.2, H<sub>1</sub>); 5.43 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.5, H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=10.2, J<sub>2,3</sub>=9.5, H<sub>2</sub>); 4.97 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.6, H<sub>4</sub>); 4.10 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 4.09 (q, 2H, J=7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 4.16 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.3, J<sub>6a,5</sub>=5.3, H<sub>6a</sub>) 3.98 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.3, J<sub>6b,5</sub>=1.9, H<sub>6b</sub>); 2.00, 1.99, 1.95, 1.93 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.34 (t, 3H, J=7, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 169.89, 169.46, 169.23, 169.06 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 160.01(1C, C12); 155.85 (1C, C7 sau C8); 155.68 (1C, C8 sau C7); 119.12 (1C, C9); 127.62 (2C, C10, C14); 114.80 (2C, C11, C13); 82.38 (1C, C1); 74.63 (1C, C5); 72.89 (1C, C3); 69.95 (1C, C2); 67.85 (1C, C4); 61.71 (1C, C6); 63.29 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 20.39, 20.34, 20.26, 20.19 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 14.53 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Ber15Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(meta-etoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:MeOH = 9:1**

**Randament = 63%**

**P.t. (°C) =140-142;**

**R<sub>f</sub> = 0.19 (Tol:AcOEt = 1:1)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> = 552**

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH): 261.0; 20300

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 603.61 s, 747.28 s, 1048.12 i, 1227.47 f.i., 1371.14 m, 1463.71 s, 1746.23 f.i. 2978.52 s, 3306.36 s, 3730.61 s

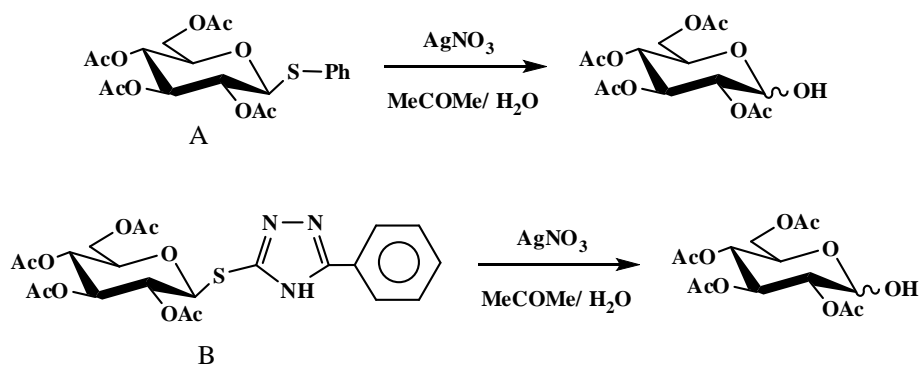
**<sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.05 (dd, 1H, J<sub>12,11</sub>=8.2, J<sub>12,10</sub>=2.5, H<sub>12</sub>); 7.43 (dd, 1H, J<sub>11,12</sub>=J<sub>11,10</sub>=8.2, H<sub>11</sub>); 7.55 (dd, 1H, J<sub>10,11</sub>=8.2, J<sub>10,12</sub>=2.5, H<sub>10</sub>); 7.53 (d, J<sub>14,12</sub>=2.5, H<sub>14</sub>); 5.64 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.2, H<sub>1</sub>); 5.44 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>4,5</sub>= 9.4, H<sub>3</sub>); 5.07 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=10.2, J<sub>2,3</sub>=9.4, H<sub>2</sub>); 4.98 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.5, H<sub>4</sub>); 4.15 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.6, J<sub>6a,5</sub>=5.2, H<sub>6a</sub>); 4.09 (q, 2H, J=7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.99 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.6, J<sub>6b,5</sub>=1.7, H<sub>6b</sub>); 4.11 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 2.01, 1.99, 1.95, 1.93 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.36 (t, J=7.0 OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 169.91, 169.48, 169.25, 169.09 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 158.83 (1C, C11); 137.23 (1C, C9); 130.28 (1C, C13); 118.13 (1C, C14); 111.66 (1C, C12); 116.62 (1C, C10); 82.34 (1C,C1); 74.64 (1C, C5); 72.87 (1C, C3); 69.91 (1C, C2); 67.86 (1C, C4); 63.20 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 61.71 (1C, C6); 20.36, 20.33, 20.25, 20.19 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 14.56 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

## II.2.2. Argumente privind structura compușilor sintetizați

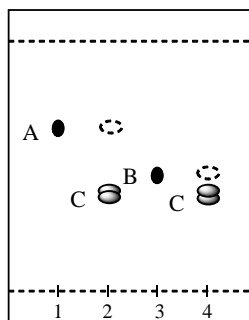
### A. Argumente chimice în favoarea formării S-glicozidelor

Așa după cum s-a prezentat în capitolul II.1.1., mercaptotriazolii și/sau congenerii lor au fost glicozilați utilizând acetohalogenuri de glicozil în mediu bazic (NaOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> etc.). De cele mai multe ori se obțin amestecuri de S- și N-glicozide. Într-un singur articol privind glicozilarea 2-mercaptobenzooxazolului în prezența pentaacetilglucozei se indică ca promotor al reacției soluția eterată de trifluorură de bor (vezi cap. II.1.1)[11]. Metoda de glicozilare a mercaptotriazolilor utilizând ca donor pentaacetilglucoza iar ca promotor trifluorura de bor este introdusă pentru prima dată în literatură de prezentul studiu. În condițiile de glicozilare prezentate în paragraful II.2.1. urmărirea reacției prin CSS a indicat obținerea unui singur pic la un R<sub>f</sub> mai scăzut decât al ambilor participanți la reacție. Cum prezența unui singur pic în amestecul de reacție în condițiile de eluare alese nu constituie prin sine un argument al unicității produsului de reacție și având în vedere posibilitățile de tautomerizare ale agliconului, ne-am pus întrebarea dacă nu cumva avem de-a face cu un amestec de N- și S-glicozide (nerezolvate cromatografic). Natura legăturii glicozidice (glucid-aglicon) a fost mai întâi determinată chimic și apoi confirmată prin spectroscopie. Legătura C-S poate fi scindată de către agenți tiofili, dintre care cel mai accesibil este nitratul de argint [18, 19]. Principiul experimentului ce confirmă natura legăturii C-S din glicozidă este prezentat în schema 24:



Schema 24

S-fenil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranoza (A în schema 24 și în figura 1) și apoi Ber1Pag (B în schema 24 și în figura 1) au fost tratate cu nitrat de argint într-un amestec acetonă:apă timp de 48 h. Controlul CSS a fost efectuat în sistemul Tol:AcOEt = 1:1 (figura 1). Amestecul de anomeri ai 2,3,4,6-tetra-O-acetil-D-glucopiranozei (C în figura 1) a fost izolat în ambele cazuri prin flash cromatografie apoi uscat puternic, constatându-se în urma efectuării spectrelor IR (KBr) că ele sunt identice. Ulterioara analiză prin spectrometrie de masă efectuată în mod ion pozitiv a pus în evidență prezența în ambele cazuri a picului pseudomolecular [M+H]<sup>+</sup>, m/z = 349. Deoarece această reacție este prezentată de S-glicozide și nu e prezentată de N-glicozide, s-a concluzionat că 3-mercapto-5-o-fenil-1-2-4-triazolul din Ber1Pag este legat de componenta zaharică printr-o legătură S-glicozidică.



**Figura 1.** Controlul CSS al reacțiilor tioglicozidelor cu nitrat de argint, efectuat în sistemul Tol:AcOEt = 1:1

## B. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie IR

Analiza prin spectrometrie IR poate da un prim indiciu cu privire la formarea glicozidei mercaptotriazolului. Din inspectarea spectrelor IR ale compușilor de start și ale produșilor de reacție se poate observa că în cazul compușilor protejați (BerPag) se regăsesc elemente comune atât cu agliconul cât și cu pentaacetilglucoza, confirmându-se astfel într-o primă fază că reacția de glicozilare a avut loc. Astfel, Ber și BerPag prezintă benzi caracteristice ciclului triazolic la intervalele precizate în literatură:  $800-900\text{ cm}^{-1}$ ;  $1040-1055\text{ cm}^{-1}$ ;  $1220 - 1228\text{ cm}^{-1}$  vizibile în toată clasa de compuși (**tabelul 3**). În domeniul cuprins între  $1500 - 1530\text{ cm}^{-1}$  [20, 21] se suprapun benzile specifice pentru vibrația inelului aromatic  $\nu_{C=C}$  și pentru ciclul triazolic și prin urmare în această regiune semnalul este mai intens și mai larg decât pentru fiecare ciclu spectrometrat separat.

Inelul aromatic se evidențiază prin banda în domeniul – vibrații de valență  $\nu_{C-H}$ :  $3000 - 3100\text{ cm}^{-1}$  cu variațiuni datorate poziției și gradului de substituție a ciclului aromatic, dar la intensități mai slabe decât e precizat în literatură [21].

Vibrațiile legăturii C-S nu se pot discerne cu precizie în nici una din clasele de compuși, fiind de intensitate foarte slabă.

Grupările protectoare acetyl se observă foarte bine în spectrele IR atât a Pag material de start, cât și a fiecărui compus sintetizat protejat, printr-o bandă foarte intensă în domeniul  $1740 - 1754\text{ cm}^{-1}$  corespunzătoare vibrației legăturii C=O.

**Tabelul 3.** Caracteristici ale spectrelor IR pentru S-glicozidele protejate

Produs	Vinel triazolic ( $\text{cm}^{-1}$ )	Vinel aromatic ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\nu_{C=O}$ (acetyl) ( $\text{cm}^{-1}$ )	$\nu_{C-H}$ aromatic ( $\text{cm}^{-1}$ )
Ber1Pag	1226 f.i.	1512 m	1748 f.i	3008 m
Ber2Pag	1246 i	1502 m	1742 f.i	2924 s-m
Ber3Pag	1222 f.i	1503 m	1750 f.i	3080 s-m
Ber4Pag	1228 f.i	-	1754 f.i	-
Ber7Pag	1226 f.i	1492 i	1754 f.i	3080 s
Ber9Pag	1226 i	1530 m	1752 f.i	3012 s
Ber12Pag	1252 f.i	1615 s	1747 f.i	2957 s
Ber13Pag	1227 i	1501 s	1747 f.i	3081 s
Ber14Pag	1223 i	1501 m	1749 f.i	2984 s
Ber15Pag	1227 f.i	1050 s	1746 f.i	2978 s

### C. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie UV

Toți compușii ce prezintă în moleculă aglicon alcătuit dintr-un triazol substituit cu un inel aromatic prezintă o alură a spectrului cu două maxime de absorbție unul nerelevant fiind în jur de 205 nm, pe când spectrele compușilor al căror aglicon este alcătuit dintr-un ciclu triazolic substituit doar cu o grupare metil (Ber4Pag) (tabelul 4) prezintă doar un maxim de absorbție (anexele 32 și 33).

Valorile mari ale coeficientului molar de extrinție ( $\epsilon$ ) de ordinul  $10^4$  arată că absorbțiile corespund unor tranziții electronice permise. Benzile de absorbție situate între 250 – 260 nm sunt caracteristice moleculelor cu duble legături, tranzițiilor  $\pi - \pi^*$ .

**Tabelul 4.** Date din spectrometria UV pentru S-glicozidele protejate sintetizate

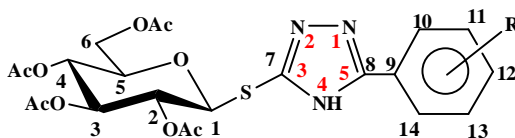
Aglicon (Ber)	BerPag	
	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$
1	245.5	17364
2	257.5	28920
3	266.5	27038
4	234	1870
7	227.5	18460
9	225.4	12200
12	270.5	24888
13	266.5	22564
14	261.0	20300
15	261.0	20300

### D. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie RMN

a. *Configurația centrului anomic* - Datorită asistenței anchimerice oferite de gruparea protectoare acetat a hidroxilului de la C2 (vezi capitolul I.1.3.C.), reacția decurge regioselectiv cu formarea doar a anomerilor  $\beta$ . Toate constantele de cuplaj  $^3J_{1,2}$  ale celor 10 compuși sintetizați se plasează în intervalul 9.2 -10.2 Hz ceea ce indică o relație  $H_{1ax}-H_{2ax}$  pentru toți compușii. Prin urmare toate S-glicozidele sintetizate sub forma lor protejată sunt  $\beta$ -S-glicozide.

b. *Conformația ciclului piranozic* - Conformația ciclului piranozic în toate glicozidele sintetizate este  $^4C_1$  fapt atestat de constantele de cuplaj  $^3J$  între  $H_2$ ,  $H_3$ ,  $H_4$  și  $H_5$ , care au toate valori mai mari de 9 Hz (vezi descrierea completă a spectrelor RMN la fiecare compus, capitolul II.2.1).

c. *Natura legăturii glicozidice* - Argumentele spectrale sunt furnizate de deplasările chimice din spectrul  $^{13}C$ -RMN ale atomilor C7 din ciclul 3-mercapto-1,2,4-triazolic (figura 2):



**Figura 2.** Numerotarea atomilor de carbon în interpretarea spectrelor RMN

Ținând cont de faptul că 3-mercapto-1,2,4-triazolii-5-substituiți pot prezenta forme tautomere, principial se poate forma o S-glicozidă și două N-glicozide substituie la  $^4N$ , respectiv

<sup>2</sup>N. Spectrele <sup>1</sup>H-RMN nu oferă nici un indiciu, însă inspectarea spectrelor <sup>13</sup>C-RMN oferă detalii prețioase cu privire la natura atomului de carbon C7 din ciclul triazolic (atunci când acesta poate fi pus în evidență; atomii de carbon C7 și C8 sunt puternic dezecranati, fapt ce necesită folosirea de cantități mari de probă (50 mg) și timpi de achiziție măriți). Dacă legarea restului glucozil s-ar face prin intermediul <sup>4</sup>N ca în cazul menționat în capitolul II.1, schema 10) atunci deplasările atomilor C7 (C3) au valori de 167.1 ppm respectiv 167.3 ppm [22] (apropiate atomilor de carbon din grupele carbonilice aparținătoare funcțiunilor esterice cu care sunt protejați hidroxilii sintonului glucidic) și forma predominantă sub care se prezintă legătura carbon-sulf este cea de dublă legătură. În compușii 2, 3, 4 din schema 10 capitolul 2.1, valorile deplasărilor atomilor C7 din ciclul triazolic sunt situate la 158.2 ppm, 159.9 ppm respectiv 153.1 ppm. Valoarea găsită pentru deplasarea chimică a C7 în S-glicozidele nou sintetizate în schema 10 în care acest atom de carbon a putut fi pus în evidență în spectrul <sup>13</sup>C-RMN este de 149.3 ppm. Valorile deplasărilor chimice ale atomului C7 (din nucleul triazolic) atunci când au putu fi puse în evidență în spectrul <sup>13</sup>C-RMN au fost de 155.41 ppm (Ber9Pag) respectiv 155.68 ppm (Ber14Pag). Aceste valori indică faptul că C7 este implicat într-o legătură simplă C-S, ceea ce confirmă faptul că agliconul se cuplează cu componenta zaharidică prin intermediul atomului de sulf și nu prin cel de azot. Așadar compușii sintetizați sunt S-glicozide.

d. *Deplasări caracteristice în seria S- glicozidelor peracetilate* – H<sub>1</sub> din poziția anomerică este ușor de atribuit deoarece în toate spectrele <sup>1</sup>H-RMN ale seriei BerPag se prezintă sub formă de dublet cu constantă de cuplaj mare, în intervalul 5.54 – 5.64 ppm. Deplasările chimice ale protonilor H<sub>2</sub> – H<sub>5</sub> se plasează în intervalul 5 – 4.09 ppm, pentru întreaga serie BerPag, identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY. Protonii grupării hidroximetil de la C6 sunt notați arbitrar H<sub>a</sub> și H<sub>b</sub>, identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY, fiecare dintre ei prezentând două constante de cuplaj. Deplasarea chimică a protonului H<sub>6b</sub> se află cuprinsă în intervalul 3.94 – 4.02 ppm. Protonii corespunzători nucleului aromatic din toate S-glicozidele analizate se plasează toți în intervalul 7.07 – 7.92 ppm. Toți protonii grupărilor protectoare acetat se plasează între 1.92 – 2.2 ppm. Atribuirea identității atomilor de carbon în spectrul <sup>13</sup>C-RMN s-a stabilit în urma efectuării experimentelor HETCOR, HMQC, HMBC și APT. În cele mai multe cazuri detectarea atomilor C7 și C8 în spectrul <sup>13</sup>C-RMN a eșuat, fie din cauza cantității prea mici de probă supusă analizei, fie din cauza timpului insuficient de achiziție (analiză mai scumpă).

### **E. Argumentarea structurii tioglicozidelor protejate prin spectroscopie MS:**

Pentru toți compușii protejați au fost efectuate spectre de masă, identitatea compușilor fiind confirmată atât în modul de operare ion pozitiv cât și în mod de operare ion negativ. În mod ion pozitiv au fost puse în evidență picurile pseudomoleculare: [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>, [M+Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup>, [M+K<sup>+</sup>]<sup>+</sup>. În mod ion negativ au fost puse în evidență picurile pseudomoleculare [M-H]<sup>-</sup>.

### II.2.3. S-glicozide deprotejate sintetizate

Grupările protectoare acetil sunt extrem de des utilizate în sintezele din chimia zaharurilor, fiind ușor de introdus în molecula zaharului și la fel de ușor de îndepărtat, chiar în manieră selectivă. Aceste grupări sunt preferate în multe sinteze datorită stabilității lor crescute în multe condiții de reacție. Literatura [23] abundă în metode de deprotejare, dintre care se pot aminti:

- deprotejarea cu hidrazină în mediu metanolic, metoda blândă ce oferă un randament excelent, metodă ce poate fi aplicată și la deprotejarea selectivă a grupărilor acetat în prezența altor grupări protectoare, de tip benzoat,
- metoda cu sită moleculară de 4Å în mediu de metanol, ce oferă rezultate cantitative, pentru deacetilare completă a zaharurilor peracetilate,
- deprotejarea cu NaOH în condiții de transfer de fază: TBAH, NaOH, THF sau DCM, în condiții blânde, cu randamente bune,
- deprotejare cu  $[t\text{-Bu}_2\text{SOH}(\text{Cl})]_2$  în mediu metanolic,
- cu soluție amoniacală 50% în mediu metanolic.

Toate aceste metode au fost elaborate în scopul deprotejării selective a grupărilor protectoare acetat din anumite poziții ale ciclului zaharic. Cea mai folosită metodă de deprotejare totală este însă cea elaborată de Zemplen, cu metoxid de sodiu, generat in situ. Aceasta metodă simplă, eficientă, economicoasă, rapidă și cu randament cantitativ a fost folosită în deprotejarea tuturor tioglicozidelor peracetilate.

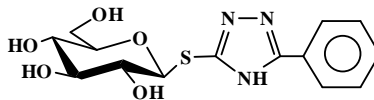
**Tabelul 5.** Reactivi și rapoarte molare în reacția generală de deprotejare

Reactanți	Mr	m(g)	V (mL)	Moli $\times 10^{-3}$	Echiv.
BerPag	-	-	-	1	1
Na	23	0.05	-	2.17	2.2
MeOH	32	0.852	10	-	-

#### **Procedeu general de deacetilare (deprotejare):**

Deprotejarea compușilor se face după metoda clasică Zemplen (tabelul 5): la o soluție rece de compus acetilat (1 mmol) în MeOH anhidru (10 mL) se adaugă sub agitare 50 mg sodiu metalic. Amestecul de reacție se lasă sub agitare la temperatura camerei 1 oră apoi se verifică desăvârșirea reacției prin CSS. Dacă la inspecția CSS (Tol:AcEt = 1:1) se observă dispariția materialului de start, se acidifică amestecul de reacție până la pH ~ 6-7 prin adăugare de rășină schimbătoare de ioni Amberlite  $\text{H}^+$  IR 120. După filtrarea rășinii pe hârtie de filtru, se îndepărtează metanolul prin evaporare la presiune scăzută, iar brutul rezultat se purifică prin cromatografie flash (AcEt:MeOH = 4:1). Pentru analize RMN compușii deacetilați purificați se recristalizează din metanol absolut.

## Ber1Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5 -fenil-1,2,4-triazol

**Aspect** (cristale albe, MeOH);

**FC**(SiO<sub>2</sub>) AcOEt:MeOH = 85:15

**Randament** = 80.5%

**P.t.** (°C) = **202-204**;

**R<sub>f</sub>** = 0.8 (AcOEt:MeOH=8:2)

**(-)ESI-HCIT-MS:** [M-H]<sup>-</sup> *m/z* = 338.0

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> *m/z* = 340.0, [M+Na]<sup>+</sup> *m/z* = 362.0, [M+K]<sup>+</sup> *m/z* = 378.0

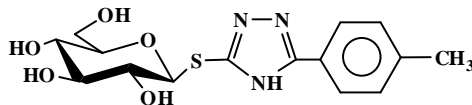
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 255.5, 17804

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 696 m, 732 m, 1042 m, 1078 m, 1088 m, 1446 m, 3416 i.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz), 343°K):** 7.62 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=7.9, J<sub>10,12</sub>=J<sub>14,12</sub>=1.9, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.48 (m, 3H, H<sub>11</sub>, H<sub>12</sub>, H<sub>13</sub>); 5.07 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.8, H<sub>1</sub>); 3.14 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>= 9.8, J<sub>2,3</sub>= 8.7, H<sub>2</sub>); 3.62 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.8, J<sub>6a,5</sub>=1.8, H<sub>6a</sub>); 3.43 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.8, J<sub>6a,5</sub> =5.4, H<sub>6b</sub>); 3.27-3.19 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.13 (m, 2H, H<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 128.87 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 125.84 (3C, C<sub>11</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub>); 85.68 (1C, C<sub>1</sub>); 81.18, 78.09, 72.83, 69.62 (4C, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>); 60.76 (1C, C<sub>6</sub>)

## Ber2Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-para-tolil-1,2,4-triazol

**Aspect** (cristale albe, MeOH);

**FC**(SiO<sub>2</sub>) AcOEt:MeOH = 85:15

**Randament** = 85%

**P.t.** (°C) = **108-110**;

**R<sub>f</sub>** = 0.39 (AcOEt:MeOH = 8:2)

**(-)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 352.0 [M-H];

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> *m/z* = 354.0, [M+Na]<sup>+</sup> *m/z* = 376.0, [M+K]<sup>+</sup> *m/z* = 392.0

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH)= 251.5, 19248

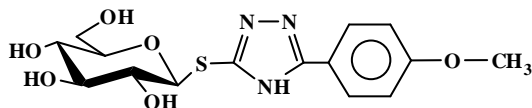
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 748 s, 824 s, 1040 s, 1088 s, 1324 s, 1464 s, 1616 s, 2340 s, 3384 s

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.85 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8Hz, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.31 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8Hz, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.10 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6Hz, H<sub>1</sub>); 3.63 (m, 1H, J<sub>6a,5</sub>=1.8Hz, J<sub>6a,6b</sub>=11.9Hz, H<sub>6a</sub>); 3.44 (m, 1H, J<sub>6b,5</sub>=4.9Hz, J<sub>6b,6a</sub>=11.9Hz, H<sub>6b</sub>); 3.15 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=8.5Hz, J<sub>2,1</sub>=9.6Hz, H<sub>2</sub>); 3.27-3.14 (m, 3H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>); 2.35 (s, 3H, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):** 157.98 (1C, C<sub>7</sub> sau C<sub>8</sub>); 153.41 (1C, C<sub>8</sub> sau C<sub>7</sub>); 139.34 (1C, C<sub>9</sub>); 129.41 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 129.41 (1C, C<sub>12</sub>); 125.80 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 85.71 (1C, C<sub>1</sub>); 81.17, 78.08, 72.82, 69.62 (4C, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>); 60.75 (1C, C<sub>6</sub>); 20.92 (1C, C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>).



## Ber3Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-metoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) AcOEt:MeOH = 85:15**

**Randament** = 90%

**P.t. (°C) = 178-180;**

**R<sub>f</sub>** = 0.36 (AcOEt:MeOH = 85:15)

**(-)ESI-HCIT-MS: [M-H]<sup>-</sup> m/z = 368.0**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 370.0, [M+Na]<sup>+</sup> m/z = 392.0, [M+K]<sup>+</sup> m/z = 408.0**

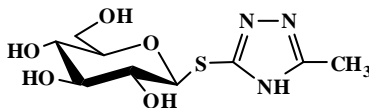
**U.V.**(λ<sub>max</sub> = 263.5 (nm), ε<sub>max</sub> = 17586

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 536 m, 836 m, 1042 m, 1078 m, 1088 , 1254 i, 1428 m, 1462 m, 1616 m, 2936 m, 3412 f.i.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.89 (d, 2H, J<sub>14,13</sub>=J<sub>10,11</sub>=8.9, H<sub>14</sub>, H<sub>10</sub>); 7.03 (d, 2H, J<sub>13,14</sub>=J<sub>11,10</sub>=8.9, H<sub>13</sub>, H<sub>11</sub>); 5.02 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.8, H<sub>1</sub>); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.61 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=1.9, H<sub>6a</sub>); 3.43 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=5.3, H<sub>6b</sub>); 3.24 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>3,2</sub>=8.5, H<sub>3</sub> sau H<sub>4</sub>); 3.25-3.17 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.11 (m, 2H, H<sub>2</sub> si H<sub>4</sub> sau H<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm)):** 160.49 (1C, C<sub>12</sub>); 158.09 (1C, C<sub>7</sub> sau C<sub>8</sub>); 154.23 (1C, C<sub>8</sub> sau C<sub>7</sub>); 127.61 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 121.63 (1C, C<sub>12</sub>); 114.48 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 85.98 (C-); 81.27(C); 77.99(C-); 72.92 (C-); 69.66 (C-); 60.85(C-); 55.46(1C, OCH<sub>3</sub>).

## Ber4Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-metil-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) AcOEt :MeOH = 4:1**

**Randament** = 73.79%

**P.t. (°C) = 118-120;**

**R<sub>f</sub>** = 0.25 (AcOEt:MeOH=4:1)

**(-)ESI-HCIT-MS: [M-H]<sup>-</sup> m/z = 276.0**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 278.0, [M+Na]<sup>+</sup> m/z = 300.0, [M+K]<sup>+</sup> m/z = 316.0**

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 234.5, 1728

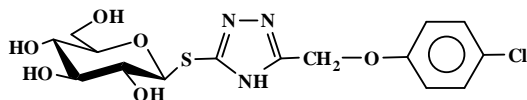
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 1027.87 m, 1030.77 m, 1072.23 m, 1103.08 m, 1270.85 s, 1460.31 m, 2925.48 m, 3396.03 m.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), J(Hz)):** 5.02 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.2, H<sub>1</sub>); 3.57 (syst. AB, CH<sub>2</sub>-6A); 3.43(syst. AB, CH<sub>2</sub>-6B); 3.25÷3.04(m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), 2.31 (bs, 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm)):** 157.10 (1C, C<sub>7</sub>); 153.85 (1C, C<sub>8</sub>); 86.07 (1C, C<sub>1</sub>); 81.16 (C-); 73.94 (C-); 72.74 (C-); 69.64 (C-); 60.87 (C-6); 11.69 (CH<sub>3</sub>).



## Ber7Glu



**Denumire:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-cloro-fenoximetil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC**(SiO<sub>2</sub>) AcOEt :MeOH = 9:1

**Randament** = 87%

**P.t.** (°C) = 108-110;

**R<sub>f</sub>** = 0.51 (AcOEt:MeOH = 8:2)

**(-)ESI-HCIT-MS:** [M-H]<sup>-</sup> *m/z* = 402.0

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> *m/z* = 404.0, [M+Na]<sup>+</sup> *m/z* = 426.0, [M+K]<sup>+</sup> *m/z* = 442.0

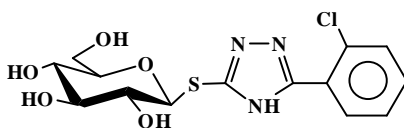
**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) = 227.5, 14090

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 997 s, 1042 s, 1490 s, 3103 s, 3339 s, 3460 s

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 7.33 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=9.0, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); .05 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=9.0, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.11 (bs, 2H, OCH<sub>2</sub>); 5.02 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10.1, H<sub>1</sub>); 3.59 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.5, J<sub>6a,5</sub>=1.1, H<sub>6a</sub>); 3.42 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.5, J<sub>6b,5</sub>=5.4, H<sub>6b</sub>), 3.22 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=8.6, H<sub>4</sub> sau H<sub>3</sub>), 3.20 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.16-3.07 (m, 2H, H<sub>2</sub> si H<sub>3</sub> sau H<sub>4</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm)):** 129.47 (2C C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 116.77 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 156.42 (1C, C<sub>9</sub>); 114.89 (1C, C<sub>12</sub>); 85.94 (1C, C<sub>1</sub>); 81.15 (C<sup>-</sup>); 77.91 (C<sup>-</sup>); 72.80 (C<sup>-</sup>); 69.49 (1C, OCH<sub>2</sub>); 69.61 (C); 60.57 (1C, C<sub>6</sub>).

## Ber9Glu



**Denumire:** S -( $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5(orto-cloro-fenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC**(SiO<sub>2</sub>) AcOEt:MeOH = 8.5:1.5;

**Randament** = 92%;

**P.t.** (°C) = 118-120;

**R<sub>f</sub>** = 0.10 (Tol:AcOEt = 1:1); 0.56

**(-)ESI-HCIT-MS:** [M-H]<sup>-</sup> *m/z* = 372.4

(AcOEt:MeOH = 4:1)

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> *m/z* = 374.5, [M+Na]<sup>+</sup> *m/z* = 396.5, [M+K]<sup>+</sup> *m/z* = 412.5

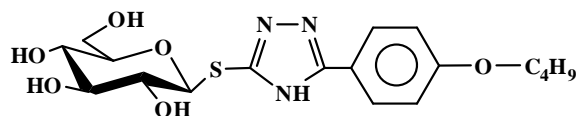
**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH): 220.5; 15700

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 747, 878, 983, 1057, 1278, 1323, 1383, 1461, 1537, 1669, 2853, 2923, 3460

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 7.81 (dd, 1H, J<sub>11,12</sub>=6.3, J<sub>11,13</sub>=2.6; H<sub>11</sub>); 7.60 (dd, 1H, J<sub>14,13</sub>=7.3, J<sub>14,12</sub>=2.1; H<sub>14</sub>); 7.48 (m, 2H, H<sub>12</sub>, H<sub>13</sub>); 5.11 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.5; H<sub>1</sub>); 3.63 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.1, J<sub>6a,5</sub>=1.0; H<sub>6a</sub>); 3.46 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.1, J<sub>6b,5</sub>=5.0; H<sub>6b</sub>); 3.28-3.16 (m, 3H, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>); 3.16 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=9.5, J<sub>2,3</sub>=8.7; H<sub>2</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), T = 363°K):** 131.41, 130.40, 130.36, 127.0 (4C, C<sub>10</sub>-C<sub>13</sub>); 91.23 (1C, C<sub>1</sub>); 81.77 (1C, C<sub>5</sub>); 77.53 (1C, C<sub>3</sub>); 69.51 (1C, C<sub>4</sub>); 69.13 (1C, C<sub>2</sub>); 61.51 (1C, C<sub>6</sub>)

## Ber12Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-butoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) AcOEt : MeOH = 92:8**

**Randament** = 88%

**P.t. (°C) = 152-154;**

**R<sub>f</sub>** = 0.32 (AcOEt:MeOH = 8:2)

**(-)ESI-HCIT-MS: [M-H]<sup>-</sup> m/z = 410.0**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 412.0, [M+Na]<sup>+</sup> m/z = 434.0, [M+K]<sup>+</sup> m/z = 450.0**

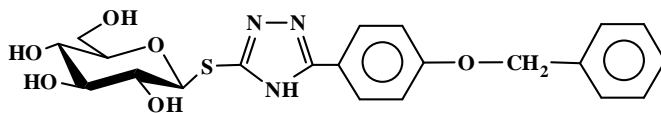
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 265.5, 31724

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 836.95 s, 1039.44 m, 1092.48 m, 1251.58 m, 1325.82 s, 1458.89 m, 1515.78 s, 1615.09 s, 1749.12 s, 2897.52 m, 2952.48 m, 3226.36 m, 3504.55 s.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.87 (d, 2H, J<sub>14,13</sub>=J<sub>10,11</sub>=8.4, H<sub>14</sub>, H<sub>10</sub>); 7.03 (d, 2H, J<sub>13,14</sub>=J<sub>11,10</sub>=8.4, H<sub>13</sub>, H<sub>11</sub>); 5.07 (bs, H<sub>1</sub>), 4.01 (t, 2H, J=7.4, □-CH<sub>2</sub>(Bu)); 3.62 (dd, 1H, J<sub>6a,5</sub> = 1.9, J<sub>6a,6b</sub>=11.6, H<sub>6a</sub>); 3.43 (dd, 1H, J<sub>6b,5</sub>=5.2., J<sub>6b,6a</sub>=11.6, H<sub>6b</sub>); 3.24 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>3,2</sub>=8.6, H<sub>3</sub> sau H<sub>4</sub>); 3.20 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.14 (bt, 2H, H<sub>2</sub> si H<sub>4</sub> sau H<sub>3</sub>); 1.70 (qv, 2H, J=7.4, □-CH<sub>2</sub>(Bu)); 1.42 (sx, 2H, J=7.4, □-CH<sub>2</sub>(Bu)); 0.92 (t, 3H, J=7.4, CH<sub>3</sub>(Bu))

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 157.0(1C, bs); 120.0(bs); 160.09 (1C, C12); 127.65 (2C, C10, C14); 114.95 (2C, C11, C13); 85.81 (1C, C1); 81.17 (C-); 77.95(C-); 72.76(C-); 67.50(C-); 60.76(C-6); 69.57(1C, □□□CH<sub>2</sub>(Bu)); 30.78(1C, □CH<sub>2</sub>(Bu)); 18.84(□□CH<sub>2</sub>(Bu)), 13.82(1C, CH<sub>3</sub>(Bu)).

## Ber13Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-benziloxi-fenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) AcOEt:MeOH = 9:1**

**Randament** = 90%

**P.t. (°C) = 208-210;**

**R<sub>f</sub>** = 0.61 (AcOEt:MeOH = 80:20)

**(-)ESI-HCIT-MS: [M-H]<sup>-</sup> m/z = 444.0**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 446.0, [M+Na]<sup>+</sup> m/z = 468.0, [M+K]<sup>+</sup> m/z = 484.0**

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 262, 24938

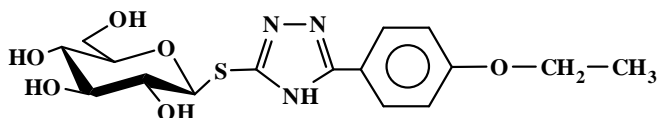
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 526.47 s, 739.56 s, 834.06 s, 1040.41 m, 1099.26 m, 1255.43 m, 1323.99 s, 1453.1 s, 1615.09 s, 2894.63 s, 2936.09 s, 3276.33 m, 3559.95 m, 3735.44 s.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.89 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.9, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>), 7.13 (2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.9, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.46 (d, 2H, J<sub>o,m</sub>=J<sub>o',m'</sub>=7.7, H<sub>o</sub>, H<sub>o'</sub>(OBn)); 7.40 (d, 2H, J<sub>m,o</sub>=J<sub>m',o'</sub>=7.7, H<sub>m</sub>, H<sub>m'</sub>(OBn)); 7.35 (t, 1H, J=7.7, H<sub>p</sub>(OBn)); 5.16 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>); 5.07 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>= 9.6, H<sub>1</sub>), 3.62 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=1.7, H<sub>6a</sub>); 3.43 (1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=5., H<sub>6b</sub>), 3.24 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>3,2</sub>=8.5, H<sub>3</sub> sau H<sub>4</sub>), 3.21 (m, 1H, H<sub>5</sub>), 3.14 (m, 2H, H<sub>2</sub> si H<sub>4</sub> sau H<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm)):** 159.78 (1C, C12); 136.90 (1C, C<sub>q</sub>(OBn)); 128.69 (2C, C<sub>m</sub>, C<sub>m'</sub>(OBn)); 128.18 (2C, C<sub>o</sub>, C<sub>o'</sub>(OBn)); 127.98 (1C, C<sub>p</sub>(OBn)); 127.72 (2C, C10, C14);

121.54 (1C, C9); 115.41 (2C, C11, C13); 69.54 (OCH<sub>2</sub>); 85.88(C-1); 81.25(C-); 78.02(C-); 72.83(C); 69.63(C-); 60.82(C-6).

### Ber14Glu



#### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-etoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Ac OEt:MeOH = 85:15**

**Randament** = 85%

**P.t. (°C) = 148-150;**

**R<sub>f</sub>** = 0.33 (AcOEt:MeOH = 85:15)

**(-)ESI-HCIT-MS: [M-H]<sup>-</sup> m/z = 382.0**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 384.0, [M+Na]<sup>+</sup> m/z = 406.0, [M+K]<sup>+</sup> m/z = 422.0**

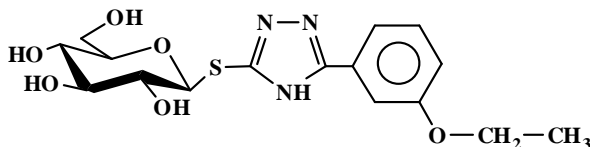
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH): 262.0; 15700

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 596.86 s, 648.92 s, 864.91 s, 1452.14 i, 1541.13 m, 1680.55 s, 2267.88 s, 2470.37 s, 3459.87 m, 3672.77 s

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.87 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.7, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.03 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.7, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.07(d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6, H<sub>1</sub>); 4.07 (q, 2H, J=6.9 OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.61 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=1.8, H<sub>6a</sub>); 3.43 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=5.1, H<sub>6b</sub>); 3.24 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>3,2</sub>= 8.5, H<sub>3</sub> sau H<sub>4</sub>); 3.20 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.13 (m, 2H, H<sub>2</sub> si H<sub>4</sub> sau H<sub>3</sub>); 1.33 (t, 3H, J=6.9, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR(75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm)):** 160.45(1C, C12), 127.72(2C, C10,C14); 120.06(1C, C9); 114.97(2C, C13, C11); 85.90(1C, C); 81.25(C-); 78.03(C-); 72.82(C-); 69.63(C-); 63.48(1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 60.81(1C, C6), 14.75(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

### Ber15Glu



#### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5 (meta-etoxifenil)-1,2,4-triazol

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:MeOH = 9:1**

**Randament** = 61%

**P.t. (°C) = 182-184;**

**R<sub>f</sub>** = 0.34 (AcOEt:MeOH =8.5:1.5)

**(-)ESI-HCIT-MS: [M-H]<sup>-</sup> m/z = 382.0**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 384.0, [M+Na]<sup>+</sup> m/z = 406.0, [M+K]<sup>+</sup> m/z = 422.0**

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH): 262.0; 15700

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 539 s, 619.03 s, 683.54 s, 750.17 s, 1043.3 m, 1085.73 m, 1231.33 s, 1323.89 m, 1463.71 s, 1610.27 s, 2779.89 s, 2884.63 s, 2975.62 s, 3243.68 m, 3589.84 s, 3730.62 s.

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.53 (dd, 1H, J<sub>10,11</sub>=8.2,J<sub>10,12</sub>=2.3, H<sub>10</sub>); 7.48 (t, 1H, J<sub>14,12</sub>=2.3, H<sub>14</sub>); 7.39 (t, 1H, J=8.2,H<sub>11</sub>); 7.01 (dd, 1H, J<sub>12,11</sub>=8.2, J<sub>12,10</sub>=2.3, H<sub>12</sub>); 5.06 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.8, H<sub>1</sub>); 4.07 (q, 2H, =7.0, OCH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>); 3.62 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.0, J<sub>6a,5</sub>=2.0, H<sub>6a</sub>); 3.43 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.0, J<sub>6b,5</sub>=5.4, H<sub>6b</sub>); 3.24 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>3,2</sub>=8.6, H<sub>3</sub> sau H<sub>4</sub>); 3.22 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.14 (m, 2H, H<sub>2</sub> si H<sub>4</sub> sau H<sub>3</sub>); 1.34(t,3H, J=7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)): 159.01 (1C, C13); 130.43 (1C, C11); 118.31 (1C, C10); 116.31 (1C, C12); 111.64 (1C, C14); 85.84 (1C, C1); 81.26 (C-); 78.00 (C-); 72.86 (C-); 69.64 (C-); 60.83 (C-); 63.41 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 14.80 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

## II.2.4. Argumente privind structura compușilor sintetizați

### A. Argumentarea structurii tioglicozidelor deprotejate prin spectroscopie IR

Compararea spectrelor IR ale agliconului BerX, glucozei și tioglicozidelor deprotejate (BerXGlu) sintetizate evidențiază anumite trăsături comune (tabelul 6). Astfel, Ber și BerXGlu prezintă benzi caracteristice ciclului triazolic la intervalele precizate în literatură: 800-900 cm<sup>-1</sup>; 1040-1055 cm<sup>-1</sup>; 1220 – 1228 cm<sup>-1</sup> vizibile în toată clasa de compuși deprotejați. În domeniul cuprins între 1500 – 1530 cm<sup>-1</sup> [20, 21] se suprapun benzile specifice pentru vibrația inelului aromatic ν<sub>C=C</sub> și pentru ciclul triazolic, de aceea de obicei semnalul este mai intens și mai larg decât pentru fiecare ciclu separat.

Inelul aromatic se evidențiază prin banda în domeniul – vibrații de valență ν<sub>C-H</sub>: 3000 - 3100 cm<sup>-1</sup> cu variațiuni datorate poziției și gradului de substituție a ciclului aromatic, dar la intensități mai slabe decât este precizat în literatură [21].

Vibrațiile legăturii C-S nu se pot discerne cu precizie în nici una din clasele de compuși, fiind de intensitate foarte slabă.

Banda foarte intensă în domeniul 1740 – 1754 cm<sup>-1</sup> corespunzătoare vibrației legăturii C=O nu este prezentă în spectrele compușilor deprotejați, în care apare o bandă pronunțată, largă, în domeniul 3400 -3500 cm<sup>-1</sup> ceea ce este în concordanță cu prezența în moleculă a mai multor grupări OH libere, care lipsește în cazul spectrelor IR ale S-glicozidelor protejate, ceea ce confirmă deprotejarea totală a acestor compuși. Se mai poate observa că toate benzile caracteristice sunt de intensități mult mai mici în cazul compușilor deprotejați comparativ cu cele ale agliconilor sau cu ale compușilor protejați corespunzători sintetizați.

**Tabelul 6.** Caracteristici ale spectrelor IR pentru S-glicozidele deprotejate sintetizate

Produs	Vinel triazolic (cm <sup>-1</sup> )	Vinel aromatic (cm <sup>-1</sup> )	ν <sub>O-H</sub> asociat (cm <sup>-1</sup> ) bandă largă
Ber1Glu	1240 m	1464 m	3416 m
Ber2Glu	1246 s	1468 s	3384 s-m
Ber3Glu	1254 m	1503 m	3412 s-m
Ber4Glu	1270 s	-	3460 m
Ber7Glu	1225 m	1490 m	3460 s
Ber9Glu	1278 s	1057 s	3012 s
Ber12Glu	1251 m	1515 s	3504 s
Ber13Glu	1255 m	1453 s	3560 m
Ber14Glu	-	1541 m	3459 m
Ber15Glu	1231 s	1610 s	3589 s

### B. Argumentarea structurii tioglicozidelor deprotejate prin spectroscopie UV

Toți compușii ce prezintă în moleculă aglicon alcătuit dintr-un triazol substituit cu un inel aromatic prezintă o alură a spectrului cu două maxime de absorbție, pe când spectrele compusului al

căruia aglicon este alcătuit dintr-un ciclu triazolic substituit doar cu o grupare metil (Ber4Glu) prezintă doar un maxim de absorbție.

Din analizarea spectrelor UV ale glicozidelor deprotejate prin raport cu cele protejate (tabelul 7), nu se pot trage concluzii direcționate care să permită aprecierea utilității metodei în identificarea schimbărilor structurale produse.

Valorile mari ale coeficientului molar de extrinție ( $\epsilon$ ) de ordinul  $10^4$  arată că absorbțiile corespund unor tranziții electronice permise. Benzile de absorbție situate între 250 – 260 nm sunt caracteristice moleculelor cu duble legături, tranzițiilor  $\pi - \pi^*$

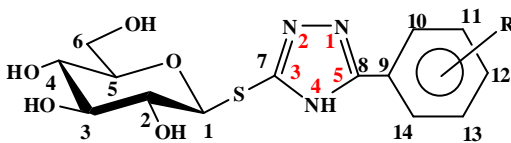
**Tabelul 7.** Caracteristici calculate din spectrele UV ale compușilor sintetizați

Aglicon (Ber)	BerGlu		BerPag	
	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$
1	255.5	20114	245.5	17364
2	251.5	19248	257.5	28920
3	263.5	17586	266.5	27038
4	234.5	1728	234	1870
7	227.5	14090	227.5	18460
9	220.5	15700	225.4	12200
12	265.5	31724	270.5	24888
13	262.2	24938	266.5	22564
14	262.0	15700	261.0	20300
15	262.0	15700	261.0	20300

### C. Argumentarea structurii tioglicozidelor deprotejate prin spectroscopie RMN

a. *Configurația centrului anomic* – În urma reacției de deprotejare nu s-a observat schimbarea configurației centrului anomic. Constantele de cuplaj  $^3J_{1,2}$  ale celor 10 compuși sintetizați se plasează în intervalul 9.6 -10.2 ppm ceea ce indică o relație  $H_{1ax}-H_{2ax}$  pentru toți compușii. Prin urmare toate S-glicozidele sintetizate sub forma lor deprotejată sunt  $\beta$ -S-glicozide.

b. *Conformația ciclului piranozic* - Conformația ciclului piranozic în toate glicozidele sintetizate este cel mai probabil  $^4C_1$ . Certitudinea nu poate fi completă deoarece există argumente numerice experimentale clare doar pentru  $^3J_{1,2}$   $^3J_{2,3}$ .



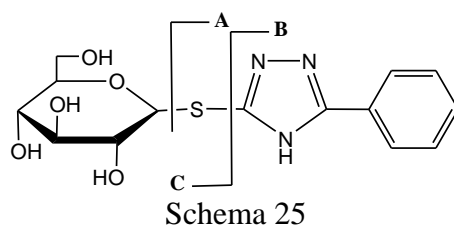
**Figura 3.** Numerotarea atomilor pentru interpretarea spectrelor RMN

d. *Deplasări caracteristice în seria S- glicozidelor deprotejate* –  $H_1$  din poziția anomică este ușor de atribuit deoarece în toate spectrele  $^1H$ -RMN ale seriei BerGlu se prezintă sub formă de dublet cu constantă de cuplaj mare în intervalul 5.02 – 5.07 ppm, fiind primul semnal în zona protonilor alifatici. Deplasările chimice ale protonilor  $H_2 - H_5$  se plasează într-un interval îngust 3.04 – 3.25 ppm, pentru întreaga serie BerGlu, identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY. Totuși constantele de cuplaj sunt foarte dificil de determinat pentru acești protoni. Protonii grupării hidroximetil de la C6 (figura 3) sunt notați arbitrar  $H_a$  și  $H_b$ , identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY, fiecare dintre ei prezentând două constante de cuplaj. Deplasarea chimică a

protonului H<sub>6a</sub> se plasează în intervalul 3.57 - 3.62 iar a protonului H<sub>6b</sub> la 3.43 ppm. Protonii corespunzători nucleului aromatic din toate S-glicozidele deprotejate se plasează în intervalul 7.03 – 7.90 ppm. Lipsa celor 4 singleți corespunzători grupărilor metil din gruparea acetat din intervalul 1.92 – 2.2 ppm confirmă deprotejarea totală a S-glicozidelor peracetilate. Atribuirea indentității atomilor de carbon în spectrul <sup>13</sup>C-RMN s-a făcut în urma efectuării experimentelor HETCOR, HMQC, HMBC și APT și este certă doar pentru C1 și C6 din ciclul piranozic. Atribuirea identității carbonilor C2-C5 a fost posibilă doar pentru compusul Ber1Glu, aceeași ordine de identitate fiind extinsă la ceilalți compuși. Punerea în evidență a atomilor C7 și C8 din ciclul triazolic a fost cel mult accidentală. Deoarece informațiile furnizate de experimentele de RMN în cazul produșilor deprotejați nu au fost la fel e complete ca cele pentru produșii peracetiilați, s-a impus un studiu suplimentar al structurii derivaților deprotejați prin spectrometrie de masă.

#### D. Argumentarea structurii tioglicozidelor deprotejate prin MS

**BER1GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-fenil-1,2,4-triazol



Structura compusului BER1GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 340.0$ ,  $m/z = 362.0$  și respectiv  $m/z = 378.0$ , ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

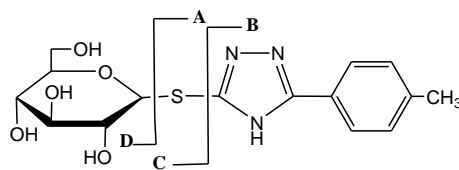
2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ este prezent ionul de la  $m/z = 338.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 338.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (**Anexa 1**)

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 175.9$  corespunde fragmentului A (vezi schema 25)
- ionul de la  $m/z = 143.9$  corespunde fragmentului B
- ionul de la  $m/z = 159.9$  corespunde fragmentului C care pierde două molecule de apă  $[C-2H_2O]$  specific compușilor glucidici (schema 25)

**BER2GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-para-tolil-1,2,4-triazol



Schema 26

Structura compusului BER2GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 354.0$ ,  $m/z = 376.0$  și respectiv  $m/z = 392.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$ , respectiv formelor protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 352.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 352.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (**Anexa 2**).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri (Schema 26):

- ionul de la  $m/z = 334.0$  corespunde picului molecular ce pierde o moleculă de apă,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici

- ionul de la  $m/z = 307.9$  corespunde ionului rezultat în urma pierderii grupării metil și a unei molecule de formaldehidă  $[M-Me-CH_2O]$ , scindare caracteristică alcoolilor primari

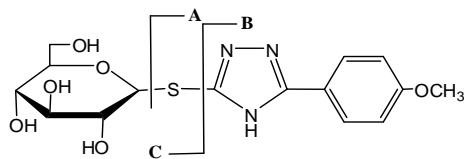
- ionul de la  $m/z = 284.0$  corespunde ionului rezultat în urma pierderii grupării metil și a 3 molecule de apă  $[M-Me-3H_2O]$ , specifică compușilor glucidici

- ionul de la  $m/z = 189.9$  corespunde ionului de fragmentare A (vezi schema 26)

- ionul de la  $m/z = 161.8$  corespunde ionului de fragmentare D (vezi schema 26)

- ionii de la  $m/z = 265$  și  $m/z = 128$  nu au fost atribuiți

**BER3GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-metoxifenil)-1,2,4-triazol



Schema 27

Structura compusului BER3GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 370.0$ ,  $m/z = 392.0$  și respectiv  $m/z = 408.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]$ ,  $[M+Na]$  și  $[M+K]$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 368.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 368.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (**Anexa 3**).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri (schema 27):

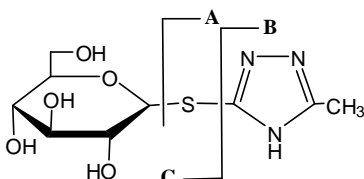
-ionul de la  $m/z = 241.1$  nu a fost atribuit

- ionul de la  $m/z = 206.0$  corespunde fragmentului A



- ionul de la  $m/z = 190.9$  provine din fragmentul B prin pierderea grupării metil [B-CH<sub>3</sub>]
- ionul de la  $m/z = 150.1$  este neatribuit
- ionul de la  $m/z = 118.0$  rezultă ca urmare a scindării dure a fragmentului A prin pierderea succesivă de grupare metil și a fragmentului S-C(=N)NH, [A-(S-C(=N)NH)-CH<sub>3</sub>]

**BER4GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5 -metil-1,2,4-triazol



Schema 28

Structura compusului BER4GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 278.0$ ,  $m/z = 300.0$  și respectiv  $m/z = 316.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari [M+H]<sup>+</sup>, [M+Na]<sup>+</sup> și [M+K]<sup>+</sup>, respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

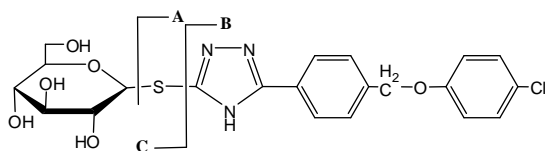
2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 276.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular [M-H]<sup>-</sup>.

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 276.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (anexa 4).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuirii:

- ionul de la  $m/z = 146.9$  corespunde fragmentului [C-H<sub>2</sub>O-CH<sub>2</sub>O] care a pierdut o moleculă de apă (eliminare specifică compușilor glucidici) și a eliminat o moleculă de formaldehidă (eliminare specifică alcoolilor primari)
- ionul de la  $m/z = 113.9$  corespunde fragmentului A (vezi schema 28)
- ionul de la  $m/z = 82.0$  corespunde fragmentului B

**BER7GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-cloro-fenoximetil)-1,2,4-triazol



Schema 29

Structura compusului BER7GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 404.0$ ,  $m/z = 426.0$  și respectiv  $m/z = 442.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari [M+H]<sup>+</sup>, [M+Na]<sup>+</sup> și [M+K]<sup>+</sup>, respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ este prezent ionul de la  $m/z = 402.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular [M-H]<sup>-</sup>.

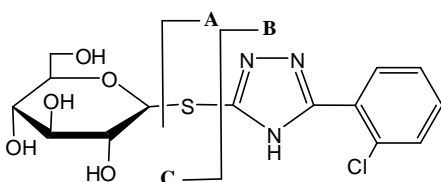


3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 402.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (anexa 5).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri (schema 29):

- ionul de la  $m/z = 281.9$  poate proveni din pierderea succesivă a atomului de clor (specifică derivaților clorurați aromatici), a grupării hidroximetil din restul glucozidic (scindare în alfa a alcoolilor) și a 3 molecule de apă (specific compușilor glucidici) din ionul molecular,  $[M-Cl-(CH_2OH)-3xH_2O]$
- ionul de la  $m/z = 239.9$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 224.0$  nu a fost atribuit
- ionul de la  $m/z = 205.0$  corespunde pierderii unui atom de Cl din fragmentul A,  $[A-Cl]$
- ionul de la  $m/z = 126.9$  corespunde ionului negativ de p-clorofenolat.

**BER9GLU:** S -(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5(orto-cloro-fenil)-1,2,4-triazol



Schema 30

Structura compusului BER9GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 374.5$ ,  $m/z = 396.5$  și respectiv  $m/z = 412.5$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 372.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 372.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (anexa 6).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri (schema 30):

- ionul de la  $m/z = 209.8$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 177.9$  corespunde fragmentului B
- ionul de la  $m/z = 141.9$  corespunde pierderii unui atom de clor  $[B-Cl]$  din fragmentul B

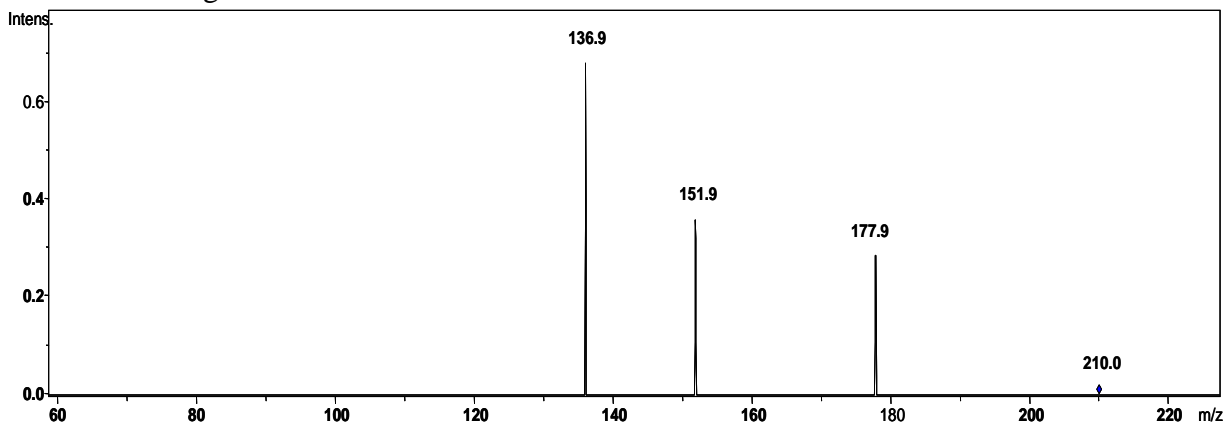
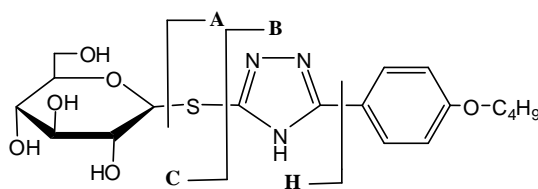


Figura 4. Spectrul  $MS^3$  al compusului Ber9Glu

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 210.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$  (**Figura 4**). Analiza spectrului  $MS^3$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 177.9$  corespunde pierderii unui atom de S din fragmentul A, adică fragmentului B (schema 30)
- ionul de la  $m/z = 151.9$  corespunde fragmentului B ce pierde gruparea  $C\equiv N$ , adică [B-CN]
- ionul de la  $m/z = 136.9$  poate proveni atât din fragmentul A ( $m/z = 210$ ) prin pierderea fragmentului  $S-C(=N)-NH$  cât și prin pierderea unei grupări NH din [B-CN] ( $m/z = 151.9$ ). Este dificil de estimat care dintre scindări este preponderentă, dar însăși existența celor două variante justifică intensitatea picului care în spectrul  $MS^3$  este pic de bază

**BER12GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5 -(para-butoxifenil)-1,2,4-triazol



Schema 31

Structura compusului BER12GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv sunt prezenți ionii de la  $m/z = 412.0$ ,  $m/z = 434.0$  și respectiv  $m/z = 450.0$ , ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

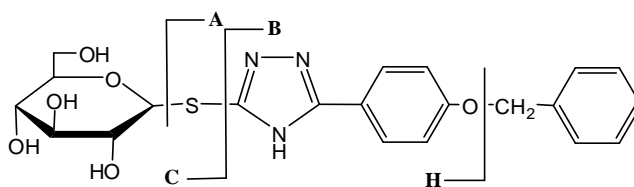
2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 410.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 410.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (anexa 7).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 261.0$  corespunde fragmentului H (schema 31)
- ionul de la  $m/z = 248.0$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 190.9$  provine din fragmentul A care pierde radicalul butil [A- $C_4H_9$ ]
- ionul de la  $m/z = 118.0$  provine din fragmentul A care pierde succesiv gruparea butil  $C_4H_9$ , iar mai apoi elimină  $S-C(=N)-NH$  [A- $C_4H_9 - (S-C(=N)-NH)$ ]

**BER13GLU** : S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(para-benziloxi-fenil)-1,2,4-triazol



Schema 32

Structura compusului BER13GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 446.0$ ,  $m/z = 468.0$  și respectiv  $m/z = 484.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 444.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 444.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup>(anexa 8)

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri (schema 32):

- ionul de la  $m/z = 414.0$  corespunde pierderii de către ionul pseudomolecular a unei molecule de formaldehidă, fragmentare caracteristică alcoolilor primari  $[M-CH_2O]$
- ionul de la  $m/z = 352.9$  corespunde fragmentului H
- ionul de la  $m/z = 316.9$  corespunde pierderii a două molecule de apă din fragmentul H,  $[H-2x H_2O]$
- ionul de la  $m/z = 282.0$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 190.9$  corespunde fragmentului rezultat prin pierderea grupării benzilice din fragmentul A  $[A-C_6H_5CH_2]$

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 353.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>3</sup> (Figura 5).

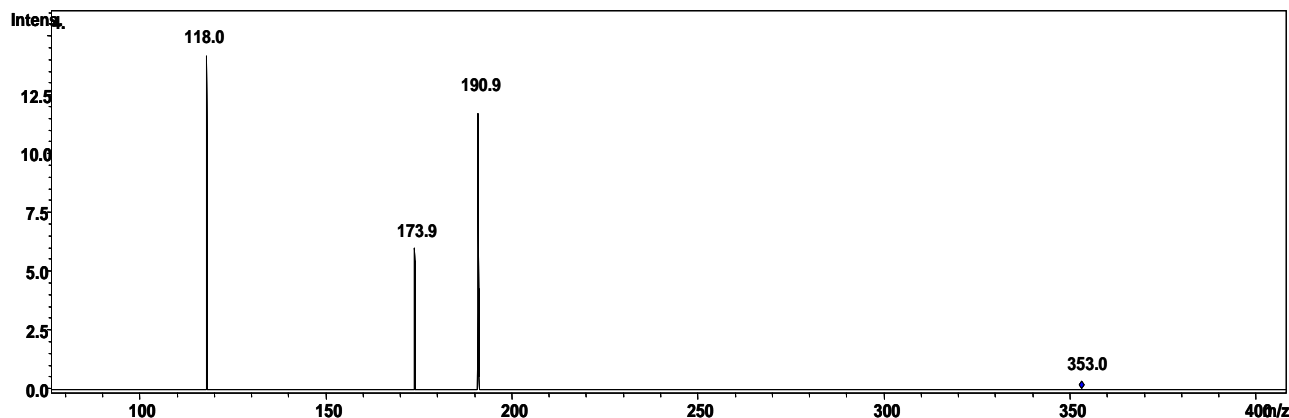


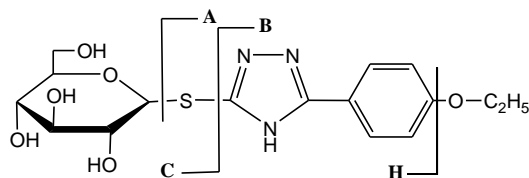
Figura 5. Spectrul MS<sup>3</sup> al compusului Ber13Glu

6) Analiza spectrului MS<sup>3</sup> conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 190.9$  corespunde pierderii fragmentului glucozidic din ionul precursor H,  $[H-C_6H_{11}O_5]$
- ionul de la  $m/z = 173.9.0$  nu a fost atribuit

- ionul de la  $m/z = 118.0$  corespunde pierderii successive a fragmentului glucozidic și mai apoi a fragmentului S-C(=N)-NH din ionul precursor H [H-(C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>5</sub>)-(S-C(=N)-NH)]

**BER14GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5(para-etoxifenil)-1,2,4-triazol



Schema 33

Structura compusului BER14GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 384.0$ ,  $m/z = 406.0$  și respectiv  $m/z = 422.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>, [M+Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup> și [M+K<sup>+</sup>]<sup>+</sup>, respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

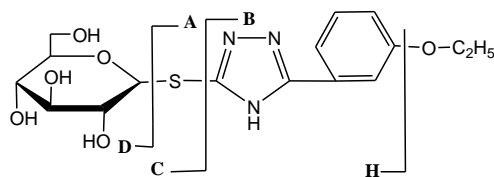
2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 382.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular [M-H]<sup>-</sup>.

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 382.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (anexa 9).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri (schema 33):

- ionul de la  $m/z = 284.0$  provine din fragmentul H prin pierderea a 3 molecule de apă, [H-3x H<sub>2</sub>O]
- ionul de la  $m/z = 220.0$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 195.0$  corespunde fragmentului C

**BER15GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-3-mercapto-5-(meta-etoxifenil) 1,2,4-triazol



Schema 34

Structura compusului BER15GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 384.0$ ,  $m/z = 406.0$  și respectiv  $m/z = 422.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari [M+H<sup>+</sup>]<sup>+</sup>, [M+Na<sup>+</sup>]<sup>+</sup> și [M+K<sup>+</sup>]<sup>+</sup>, respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

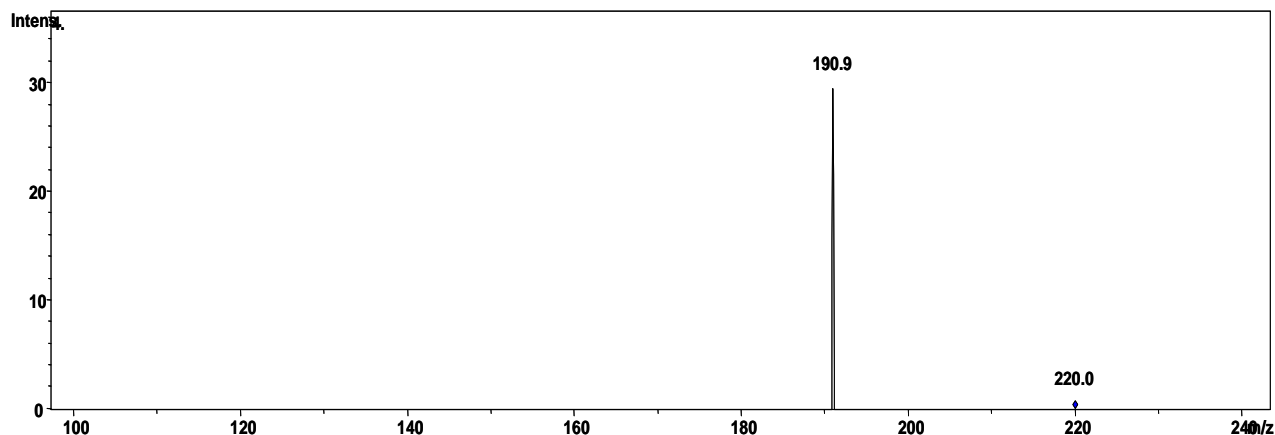
2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ este prezent ionul de la  $m/z = 382.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular [M-H]<sup>-</sup>.

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 382.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (anexa 10).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri (schema 34):

- ionul de la  $m/z = 364.1$  corespunde pierderii unei molecule de apă din ionul molecular [M-H<sub>2</sub>O] (specific compușilor glucidici)

- ionul de la  $m/z = 346.1$  corespunde pierderii a două molecule de apă din ionul pseudomolecular  $[M-2xH_2O]$
- ionul de la  $m/z = 337.9$  corespunde fragmentului H
- ionul de la  $m/z = 219.9$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 190.9$  corespunde pierderii grupării etil din fragmentul A  $[A-C_2H_5]$
- ionul de la  $m/z = 162.9$  corespunde fragmentului D



**Figura 6.** Spectrul  $MS^3$  al compusului Ber15Glu

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 220.0$  (fragmentul A) care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$  (**Figura 6**). Analiza spectrului  $MS^3$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 190.9$  corespunde pierderii grupării etil din fragmentul A  $[A-C_2H_5]$

## II.2.5. CONCLUZII

Aplicarea pentru prima dată a metodei Ferrier la reacția de glicozilare a 3-mercapto-1,2,4-triazolilor 5-substituiți cu 1,2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucoză duce la obținerea exclusivă a  $\beta$ -S-glicozidelor. Urmărirea reacției prin CSS a indicat obținerea unui singur pic la un  $R_f$  mai scăzut decât al ambilor participanți la reacție. S-au stabilit condițiile optime ale desfășurării reacției, fiind necesar un exces de 1.5 echivalenți molari de aglicon și 5 echivalenți molari de soluție de trifluorură de bor eterată. Această soluție de catalizator trebuie să fie proaspăt distilată, iar reactanții trebuie să fie anhidrificali în prealabil.

S-a încercat sintetizarea a 15 tioglicozide, cu 15 agliconi de tipul 3-mercapto-1,2,4-triazoli-5-substituiți, conform **tabelului 1**, dar efectiv s-a reușit sinteza a zece tioglicozide protejate noi, nemenționate în literatură, cu zece 3-mercapto-2,3,4-triazoli-5-substituiți diferiți, din care apoi au fost obținute prin metoda de deprotejare descrisă de Zemplen cele zece tioglicozide deprotejate corespunzătoare, de asemenea compuși noi, nemenționați în literatură.

Structura acestora este confirmată prin analize spectrale de masă și RMN. În condițiile alese nu se observă formarea  $^1N$ -glicozidelor,  $^4N$ -glicozidelor sau a  $^4N,S$ -diglicozidelor, ca în cazul altor metode menționate în literatură. Au fost stabilite de asemenea cele mai bune condiții pentru izolarea și purificarea S-glicozidelor obținute.

Din analiza spectrelor IR ale tioglicozidelor protejate și deprotejate se poate observa că acestea prezintă elemente comune cu cele ale agliconilor corespunzători, argument ce confirmă într-

o primă fază că reacția de glicozilare a avut loc. De asemenea, toate S-glicozidele protejate prezintă banda caracteristică vibrației legăturii C=O, prezentă în grupele protectoare acetil ale componentei glucidice a moleculelor, în vreme ce în spectrele IR ale compușilor deprotejați această bandă nu este prezentă.

Configurația centrului anomic, conformația ciclului piranozic și natura legăturii glicozidice au fost confirmate prin spectrometria RMN de hidrogen și de carbon, precum și COSY, HETCOR, HMQC, HMBC și APT. Astfel, constantele de cuplaj  ${}^3J_{1,2}$  pentru toate tioglicozidele sintetizate se plasează la valori de peste 8 Hz, ceea ce indică o relație  $H_{1ax}-H_{2ax}$  pentru toți compușii, deci centrul anomic este în configurație  $\beta$  în toate cazurile. Conformația ciclului piranozic în toate glicozidele sintetizate este  ${}^4C_1$  fapt atestat de constantele de cuplaj  ${}^3J$  între  $H_2$ ,  $H_3$ ,  $H_4$  și  $H_5$ , care au toate valori mai mari de 9 Hz.

Natura legăturii glicozidice a fost argumentată pe baza spectrelor  ${}^{13}C$ -RMN ale S-glicozidelor protejate, în care valorile deplasărilor chimice ale atomului C7 (din nucleul triazolic) atunci când au putut fi puse în evidență au fost de 155.41 ppm (Ber9Pag) respectiv 155.68 ppm (Ber14Pag). Aceste valori indică faptul că C7 este implicat într-o legătură simplă C-S, ceea ce confirmă faptul că agliconul se cuplează cu componenta zaharidică prin intermediul atomului de sulf și nu prin cel de azot. Așadar compușii sintetizați sunt S-glicozide. În sprijinul acestei afirmații s-a făcut și argumentarea chimică. În acest scop s-a încercat tratarea uneia din S-glicozidele sintetizate (Ber1Pag) cu soluție de nitrat de argint știut fiind că legătura C-S poate fi scindată de către agenți tiofili, dintre care cel mai accesibil este nitratul de argint. Faptul că în urma reacției s-a obținut 2,3,4,6-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucoză confirmă natura legăturii glicozidice.

Deoarece în cazul tioglicozidelor deprotejate nu s-au putut efectua atribuiri precise ale tuturor atomilor de carbon, s-a efectuat analiza detaliată a spectrelor de masă ale tuturor celor 10 tioglicozide de mercaptotriazoli obținute. S-a lucrat atât în mod ion pozitiv când s-au putut pune în evidență ionii pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$  cât și în mod ion negativ, când s-a evidențiat ionul pseudomolecular  $[M-H]^-$ . Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului  $[M-H]^-$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  pentru toți compușii (vezi anexele 1-10). În unele cazuri (Ber9Glu, Ber13Glu, Ber15Glu) s-a izbutit efectuarea și a spectrului  $MS^3$  (figurile 4, 5 și 6), care a fost de asemenea interpretat.

Din analizarea spectrelor de masă  $MS^2$  efectuate în mod ion negativ ale compușilor deprotejați sintetizați, se observă că:

- scindarea legăturii C-S din moleculă are loc în toate cazurile, fiind posibilă identificarea fragmentului de aglicon (fragmentul A din schemele explicite) rezultat.
- în patru cazuri s-a putut constata și scindarea atomului de sulf din aglicon, prin identificarea fragmentului de triazol substituit fără atomul de sulf (fragmentul B)
- în cazul compușilor Ber7Glu și Ber9Glu s-a putut pune în evidență pierderea atomului de clor din componenta agliconică (A-Cl, respectiv B-Cl).
- în afara spectrelor compușilor Ber9Glu, Ber12Glu și Ber14Glu, în toate celelalte s-a putut identifica pierderea de molecule de apă, scindare specifică glucidelor.
- în cazul compușilor ce posedă substituenți mai masivi în poziția 5 a ciclului triazolic, s-a putut identifica modelul de scindare avansată a acestora, prin intermediul spectrelor  $MS^3$ .

În urma analizării spectrelor  $MS^3$  disponibile, s-a putut confirma atribuirea fragmentelor de bază din scindarea moleculelor, observându-se și o scindare mai avansată a agliconului mai voluminos. Astfel s-a putut recunoaște pentru compusul Ber13Glu pierderea succesivă a fragmentului glucozidic, apoi a fragmentului S-C(=N)-NH din ionul precursor H.



### II.3. Bibliografie

1. Abdel-Megeid F. M. E.; Elkaschef M. A.-F.; Abdel-Bary H. M., *A. Carbohydr. Res.* 1977, 59, 95
2. El Ashry, E. S. H.; Awad L.F., Atta A.I., *Tetrahedron*, 62 (2006) 2943-2998
3. Cao, S.; Meunier, S. J.; Andersson, F. O.; Letellier, M.; Roy, R. *Tetrahedron: Asymmetry* 1994, 5, 2303
4. Wagner G.; Dietzsch B.; Krake U. *Pharmazie* 1975, 30, 694
5. Abdel-Bary H. M. A.; Abdel-Megeid F. M. E.; El-Hewehi Z.; Elkaschef M. A.-F., *J. Prakt. Chem. (B)* 1972, 314, 461
6. Wagner G.; Dietzsch, B., *J. Prakt. Chem.* 1973, 315, p 915; *Chem. Abstr.* 1974, 80, p 48318p
7. Al-Masoudi N.A., Issa F.B., Al-Timan U.A., *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 1997, 106, 215-220
8. El-Barbary A. A.; Khodair A. I.; Pedersen E. B.; Nielsen C., *J. Med. Chem.* 1994, 37, 73
9. Khodair A. I.; Ibrahim E. E., *Nucleosides Nucleotides* 1996, 15, 1927
10. Demchenko A. V.; Kamat M. N.; De Meo C., *Synlett* 2003, 1287
11. Demchenko A. V.; Malysheva N. N.; De Meo C., *Org. Lett.*, 2003, 5, 455
12. Zinner H.; Peseke K., *J. Prakt. Chem.* 1970, 312, p 185; *Chem. Abstr.* 1970, 73, p 35694p.
13. Khodair A. I.; Al-Masoudi N. A.; Gesson J.-P., *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids* 2003, 22, 2061
14. El Ashry E. S. H., Kassem A. A., Abdel-Hamid H. M., Louis F., Khattab S. A. N., Aouad M. R., *Carbohydrate Research* 344 (2009) 725–733
15. Ferrieres V.; Blanchard S.; Fischer D.; Plusquellec D., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002, 12, 3515
16. Mathe, C.; Perigaud, C.; Gosselin, G.; Imbach, J.-L. *Nucleosides Nucleotides* 1994, 13, 437
17. Şişu E., Lascu A., Bercean V., Căproiu M., Zamfir A., Şişu I., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V., Katalinic J.P., *Rev. Chim. (Bucharest)*, 54(2) (2003) 181-183
18. Garegg, P.J., Hultberg H., Lindberg C., *Carbohydr. Res.*, 83 (1980) 157
19. Şişu E., Sollogoub M., Mallet J.-M., Sinaÿ P., *Tetrahedron*, 58( 51) (2002) 10189-10196
20. Pretsch E., Buhlmann P., Badertscher M., *Structure Determination of Organic Compounds*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009
21. Balaban A.T., Banciu M., Pogany I. – *Aplicații ale metodelor fizice în chimia organică*, Ed. Ştiințifică și Enciclopedică, București, 1983, p. 23
22. Al-Masoudi N. A., Issa F. B., Al-Timari U. A., *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 106, (4) (1997) 215
23. Wuts P.G. M, Greene T. A. W., *Protective Groups in Organic Chemistry*, 4<sup>th</sup> Ed., John Wiley & Sons, 2007, p. 230
24. Şişu I., Bercean V., Lascu A., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V., Şişu E., *Annals of West University of Timișoara, ser. chem.*, 12 (3) (2003), pg. 1393-1398
25. Şişu I., Bercean V., Lascu A., Căproiu M., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V., Şişu E., *Sixth Post-Graduate Summer School on Green Chemistry*, Venezia – ITALY, August 31<sup>th</sup> - September 6, 2003
26. Neanu C., Şişu I., Lascu A., Csunderlik C., Bercean V., Şişu E., *Ischia Advanced School of Organic Chemistry – IASOC*, Ischia Porto (Napoli) – ITALY, September 18-23, 2004, pg. 75
27. Lascu A., Şişu I., Neanu C., Bercean V., Rusu V., Şişu E., *Proceedings “New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Environmental Protection”*, 8-9 Nov., 2007, Timișoara, Romania; (Book of abstracts; ISBN: 978-973-52-0217-0); pg.108-110
28. Lascu A., *Simpozionul Contribuții ale Tinerilor Cercetători la Dezvoltarea Direcțiilor Prioritare în Chimie*, Timișoara, România, 23 mai 2008, (electronic volume), pg. 8
29. Lascu A., Bercean V., Şişu I., Neanu C., Şişu E., *Proceedings of the Second Edition of the Symposium with International Participation New Trends and Strategies in the Chemistry of*

*Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Environmental Protection*, Timișoara, România, 6-7 Nov., 2008; Ed. Mirton, Book of abstracts; p. 187, (ISSN:2065-0760)

30. Lascu A., Şişu I., Bercean V., Lupea A. X., Şişu E., *Abstracts Timisoara's Academic Days, XI<sup>th</sup> Ed.*, 28-29 May 2009, Timișoara, Romania, I.S.B.N. 978-973-52-0630-7 pag. 61

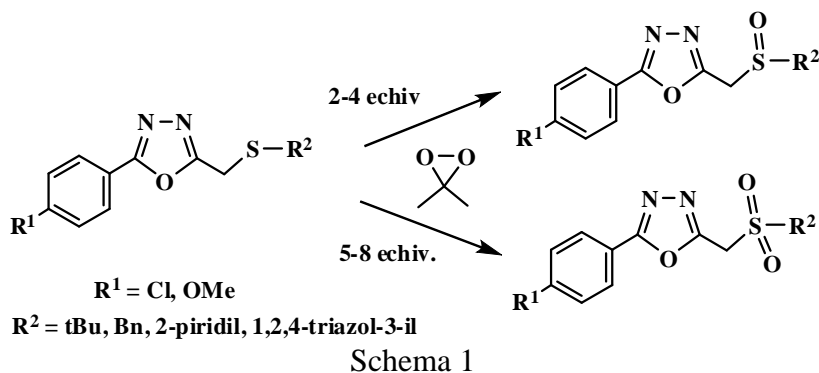


### **CAPITOLUL III. OBȚINEREA DE GLICOZILSULFONE ALE MERCAPTOTRIAZOLILOR**

### III.1. POSIBILITĂȚI DE OBTINERE A SULFONELOR DIN TIOETERI PRIN OXIDARE

#### III.1.1. Oxidare cu dioxirani

Dioxiranii sunt agenți de oxidare electrofili, convenabili și extrem de eficienți pentru oxidarea selectivă a compușilor organici ce conțin atomi de sulf. Cu acești agenți se poate obține oxidarea selectivă a atomului de sulf chiar în prezența altor grupări susceptibile la oxidare în moleculă ca de exemplu alcooli, duble legături[1]. Dacă se tratează sulfuri ale oxadiazolilor substituiți (schema 1) cu dimetildioxiran (DMD)[2] se obțin sulfoxizii sau sulfonele corespunzătoare, cu randamente excelente, funcție de cantitatea de agent oxidant folosită [3]. Tratarea sulfurilor cu 2-4 echivalenți de DMD duce la obținerea sulfoxizilor, iar utilizarea unui exces de 5-8 echivalenți de agent de oxidare produce transformarea completă la sulfone (schema 1).



Variante alternative de oxidare cu apă oxigenată în prezență de acid acetic au eșuat, nedetecându-se formarea sulfoxizilor sau a sulfonelor corespunzătoare (substratul reacției nefiind stabil în condițiile reacției de oxidare alese) [3]. Folosirea DMD a constituit pentru acești compuși o variantă viabilă, oxidarea decurgând în condiții blânde, neutre, fără afectarea heterociclului.

Albert Lévai [1] a tratat pe larg prepararea și utilizarea dioxiranilor la oxidarea compușilor organici ce conțin atomi de sulf. Sulfurile simple tratate cu TFD (metil(trifluorometil)dioxiran) se oxidează până la sulfone, fără a afecta alți sulfoxizi prezenți în moleculă. În cazul oxidării tiolesterilor, utilizarea de cantități stoichiometrice de dioxiran conduce la formarea de  $\alpha$ -oxosulfonă cu o conversie de 50%, fără a se detecta prezența sulfoxizilor. În cazul compușilor ce conțin atât dublă legătură cât și funcția tioetică, oxidarea selectivă a acesteia din urmă se poate realiza cu DMD. Funcție de cantitatea de agent oxidant utilizată, se pot obține sulfoxizi și/sau sulfone, fără a epoxida dubla legătură.

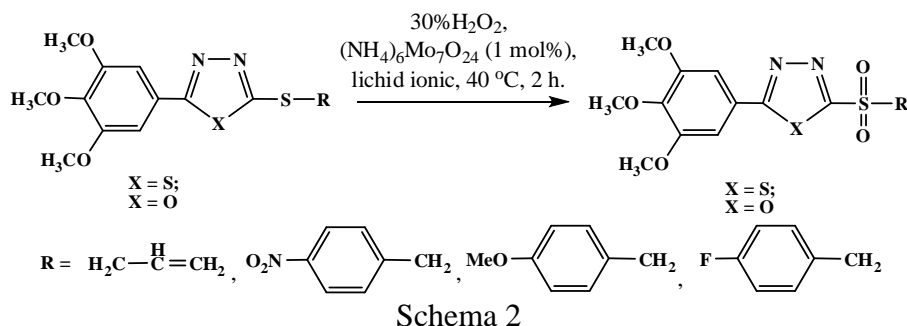
Ușurința cu care se oxidează tioeterii cu dimetildioxiran permite determinarea conținutului de peroxid al unei soluții de dimetildioxiran la oxidarea tioanisolului la sulfoxidul corespunzător, acesta putând fi dozat cromatografic [4] sau prin spectroscopie H-RMN [5].

#### III.1.2. Oxidare cu apă oxigenată

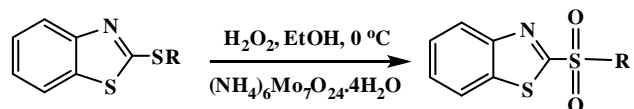
Apa oxigenată reprezintă un agent de oxidare tentant, datorită conținutului ridicat de oxigen activ, costurilor scăzute, depozitării ușoare și siguranței în manipulare [6]. Deoarece este un oxidant lent, au fost investigate numeroase variante de oxidare catalitică folosind compuși ai metalelor tranziționale drept catalizatori:

## A. Compuși ai molibdenului cu rol catalitic

**a. Molibdat de amoniu** - Oxidarea 1,3,4-oxadiazol- și a tiodiazolilor substituiți (compuși ce prezintă activitate antifungică) a fost realizată folosind apă oxigenată și molibdat de amoniu, în lichide ionice ([bmim]PF<sub>6</sub>) oxidare care a decurs cu randamente foarte bune fără a afecta grupările nitro, halogen sau metoxi prezente în moleculă [7]. Folosind apă oxigenată în exces și lucrând la temperaturi ce nu depășesc 40 °C o serie de sulfone au fost preparate, izolate și caracterizate conform schemei 2.



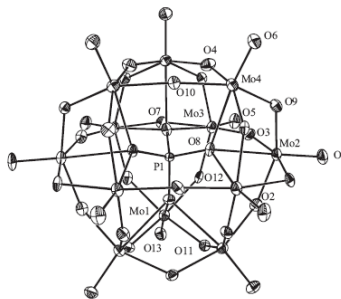
O serie de tioeteri ai benzotiazolului au fost oxidați la sulfonele corespunzătoare în scopul obținerii de donori de alchil utilizați în olefinarea Julia a glicozilactonelor. Oxidarea s-a efectuat regioselectiv, cu apă oxigenată la temperatură joasă și folosind cantități catalitice de sare de molibden, fără a afecta atomul de sulf endociclic [8](schema 3):



R = etil, izopropil, ciclopentil, heptil, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>OTHP, but-3-enil

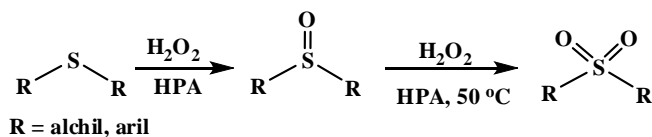
Schema 3

**b. Heteropoliacizi ai molibdenului cu structuri de tip Keggin** - Heteropolianionii cu formula generală [X<sub>x</sub>M<sub>m</sub>O<sub>y</sub>]<sup>q-</sup> (M = W, Mo, Nb, V,...; X = Si, P, B, Co, Fe, Cu,...) ce prezintă structuri de tip Keggin sunt studiați de peste un secol. Utilizarea lor în postură de catalizatori ai reacțiilor de oxidare a tioeterilor este însă de dată recentă. O serie de catalizatori ce prezintă structuri de tip Keggin au fost sintetizați în laborator [9], prin reacția între polioxomolibdat H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> (PM<sub>12</sub>) (figura 1) și diferite amine precum chinolina QuiH<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>20</sub> (PM<sub>12</sub>Qui) cinconidina CidH<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> (PM<sub>12</sub>Cid) și cinconina CinH<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub> (PM<sub>12</sub>Cin).



**Figura 1.** Diagrama Ortep a heteropolianionului de tip Keggin [H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>]<sup>-1</sup>

Marele avantaj al acestor catalizatori îl constituie faptul că, funcție de raportul reactanților și de temperatură, se pot obține atât sulfoxizii cât și sulfonele cu randamente ridicate (schema 4). Catalizatorul necoroziv poate fi recuperat și refolosit fără a-și pierde capacitățile catalitice. Pe de altă parte, utilizarea de catalizatori insolubili în locul celor solubili contribuie la reducerea poluării.



Schema 4

În absența catalizatorului, la temperatura camerei și folosind acetonitril ca solvent, reacția are randamente foarte scăzute (10%). Folosind unui exces de apă oxigenată și a compusului  $\text{PM}_{12}\text{Cin}$  drept catalizator se obține după 3 ore o conversie de 99% în sulfonă, lucrând la 50 °C.

**c. Complecși oxo-organometalici ai molibdenului** - Complecși oxo-organometalici ai molibdenului  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{R}_5)\text{Mo}(\text{CO})_3\text{Cl}]$  ( $\text{R} = \text{H}$  sau  $\text{CH}_3$ ) (compuşii **1** și respectiv **2** în figura 2) și  $[(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_5)\text{MoO}_2\text{Cl}]$  (compusul **3** în figura 2) s-au dovedit catalizatori eficienți [10] ai reacției de oxidare cu apă oxigenată a sulfurilor la sulfonele corespunzătoare. O întreagă gamă de alchil-aril, diaril și dialchil sulfuri au fost oxidate în această abordare (schema 5).

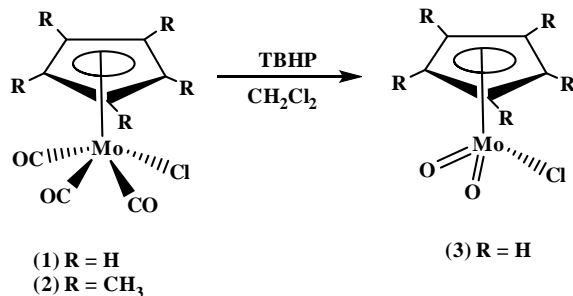
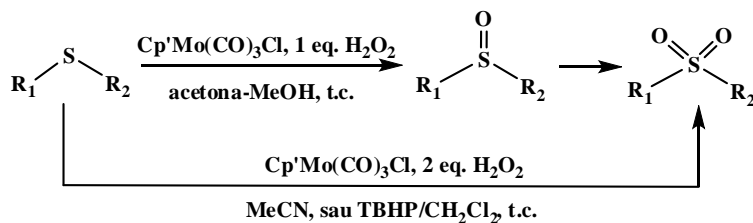


Figura 2. Structura spațială a complecșilor oxo-organometalici

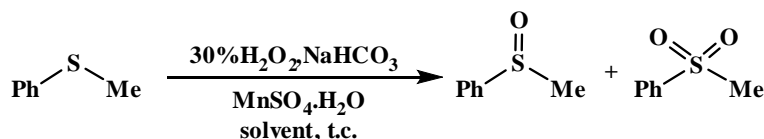
Reacția de oxidare decurge în condiții moderate la temperatura camerei cu folosirea a 2 echivalenți apă oxigenată în MeCN. Același catalizator s-a dovedit a fi eficient atunci când s-a folosit ca agent oxidant hidroperoxidul de terțbutil (TBHP), în acest caz forma catalitică a complexului oxo-organometalic generându-se în mediul de reacție ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  – figura 2). În cazul compuşilor oxidați, metoda prezintă avantajul că produșii de reacție precipită la sfârșitul procesului, prelucrarea masei de reacție fiind astfel foarte simplă.



Schema 5

## B. Săruri de mangan(II)

Relativ recent a fost raportată utilizarea ionului bicarbonat în postură de activator și a sărurilor de  $Mn^{2+}$  drept catalizator. A fost subliniat rolul ionului de  $Mn^{2+}$  în descompunerea anionului peroxicarbonat ( $-HCO_4$ ) [11, 12]. Deoarece apa oxigenată este un oxidant lent, o permanentă preocupare a constituit-o găsirea de activatori sau de catalizatori care să surmonteze această deficiență. O metodă de activare a apei oxigenate, descrisă de Drago și colab. [12] și studiată în amănunt de Richardson et al. [11] utilizează ionul bicarbonat în postură de activator și cationul de mangan în postură de catalizator. În fapt, apa oxigenată transformă la  $pH > 8$  (în soluție tampon) ionul bicarbonat în ion peroxicarbonat ( $HCO_4^-$ ), acesta fiind descompus la rândul lui de  $Mn^{2+}$ . Acest artificiu s-a dovedit eficient atât la epoxidarea dublelor legături cât și în transformarea sulfurilor în sulfoxizi și sulfone. [13]. În cazul particular al metilfenilsulfonei, reacția poate avea loc și în absența solvenților organici, cu conversie în sulfonă de 100% și cu utilizarea a 5 echivalenți de agent oxidant (schema 6).

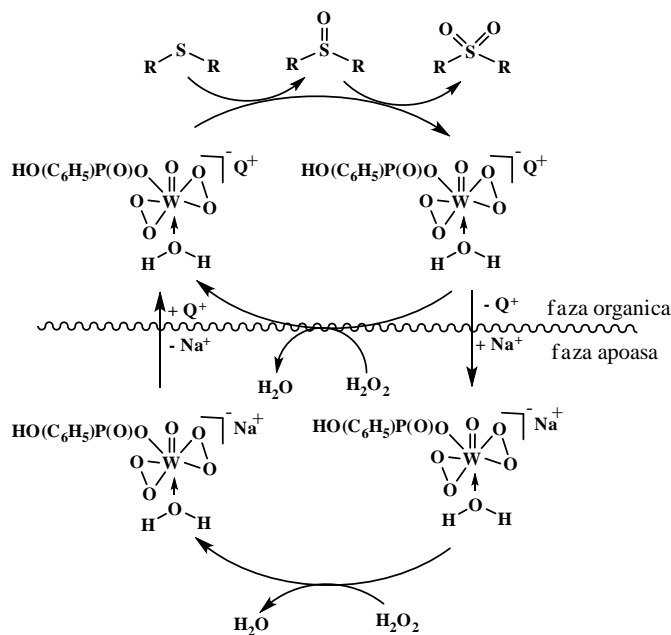


Schema 6

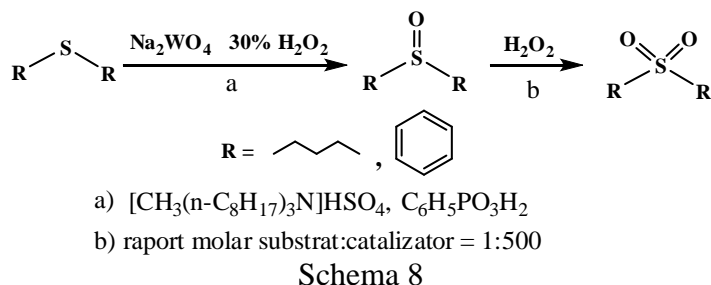
Această metodă permite oxidarea chemoselectivă și rapidă a tioeterilor atât la sulfoxid cât și la sulfone în funcție de condițiile alese, alte grupări funcționale prezente în moleculă precum duble legături, alcooli, eteri și esteri nefiind afectate în aceste condiții.

## C. Complecși ai wolframului

Utilizarea wolframului de sodiu ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ) drept catalizator și a acidului fenilfosfonic ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}_3\text{H}_2$ ) ca promotor, permite instalarea unui ciclu catalitic interfațic în prezența hidrogensulfatului de metil trioctilamoniu  $[\text{CH}_3(\text{n-C}_8\text{H}_{17})_3\text{N}]\text{HSO}_4$  atunci când apa oxigenată este donatorul de oxigen [14]. Rolul acidului fenilfosfonic a fost deslușit, el măbind reactivitatea anionilor peroxi, ligandați de anionul wolfram. Mișcarea de navetă între faza apoasă și cea organică este asigurată de cationul de metiltrioctilamoniu, conform schemei 7.



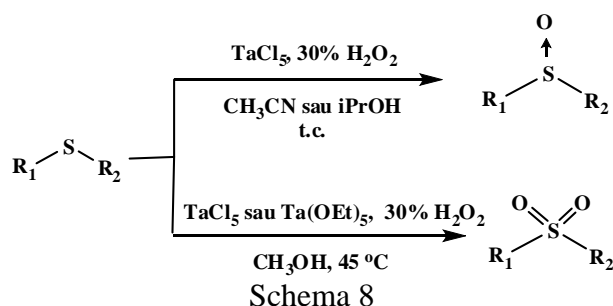
Funcție de condițiile alese, reacția se poate opri la sulfoxid sau sulfonă (schema 8).



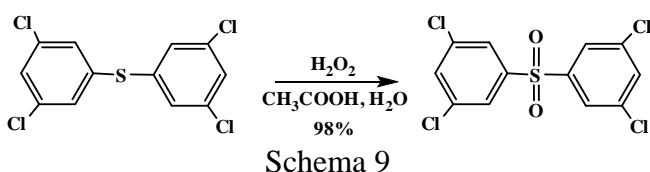
Avantajul clamat de autorii procedurii îl constituie lipsa solvenților organici, reacția funcționând cu randamente excelente în cazul în care substratul este chiar mediul de reacție (sulfuri lichide). Reacția funcționează cu aceleași bune randamente în cazul sulfurilor solide, în acest caz adaosul de solvent (acetat de etil) fără a afecta randamentul. Oxidarea este selectivă pentru sulfuri și sulfoxizi, lăsând legăturile olefinice sau componentele alcoolice din moleculă neafectate.

#### D. Catalizator pe bază de ion de tantal

Deși reacțiile de oxidare cu apă oxigenată catalizate de metale tranziționale produc compuși oxidați cu randamente ridicate, mai apar unele probleme precum utilizarea de condiții acide sau bazice (pentru ionii de mangan), timpi de reacție lungi (pentru ionii de fier și molibden), folosirea de solvenți și/sau reactivi periculoși (Mo, V, Cu, Mn), chemoselectivitate scăzută (Ti, Fe, V, W, Re) sau necesarul de elemente rare (Re și Au). Spre deosebire de compușii vanadiului, compușii tantalului sunt mult mai puțin toxici, deci mai potriviți pentru noile tendințe ale „chimiei ecologice”. Rolul catalitic îl manifestă nu numai clorura de tantal ci și etoxidul sau oxidul de tantal(V). Alegerea solventului și a temperaturii este determinantă în conducerea reacției spre sulfoxid sau sulfonă [15] (schema 8). Oxidarea unei game largi de sulfuri, atât aromatice cât și alifatic, ciclice sau aciclice decurge cu randamente foarte bune în solvenți uzuali (CH<sub>3</sub>CN, EtOH, iPrOH) cu utilizarea a doar 0.02 echivalenți de catalizator.



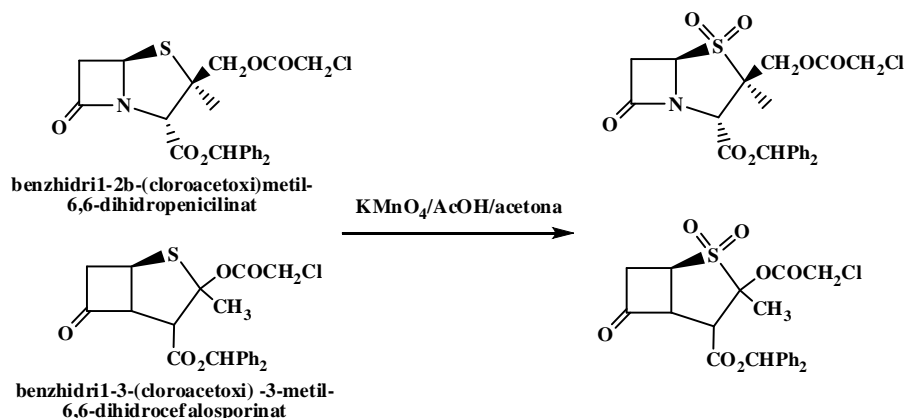
În cazuri cu totul particulare, oxidarea tioeterilor cu apă oxigenată poate decurge în mod simplu, la temperatura camerei, folosind acidul acetic în calitate de cosolvent [16](schema 9):



### III.1.3. Oxidări cu agenți de oxidare clasici

#### A. Oxidări cu $\text{KMnO}_4$ / acid acetic:

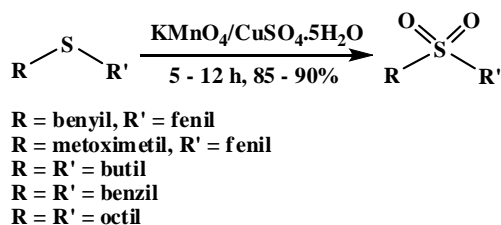
Permanganatul de potasiu în mediu de acid acetic s-a dovedit a fi un bun oxidant al atomului de sulf din tioeteri ciclici (derivați ai cefalosporinelor). Reacția de oxidare decurge fără deschiderea ciclului, cu formare de sulfone și folosind ca solvent acetona [17] (schema 10):



Schema 10

#### B. Oxidare cu $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ în fază solidă

Utilizarea reacțiilor fără solvent sunt de interes general, datorită potențialului lor în chimia combinațiilor complexe, însă în cazul oxidărilor literatura este mai degrabă săracă [18]. Oxidarea tioeterilor solizi sau lichizi are loc prin simpla amestecare a unor cantități egale de permanganat de potasiu și sulfat de cupru pentahidrat cu substratul. În unele cazuri este necesară încălzirea amestecului pentru definitivarea reacției. Pe această cale s-au oxidat o serie întreagă de diaril, dialchil și aril-achil eteri (schema 11). Nu se observă formarea de sulfoxizi în aceste condiții. Sulfona rezultată se poate extrage ușor din amestec prin spălare cu o cantitate minimă de solvent organic (clorură de metilen, hexan sau eter), iar concentrarea extractului organic duce la obținerea unui produs relativ pur. Adăugarea de alumină la suportul solid al reacției mărește doar viteza de reacție, fără a influența randamentul.

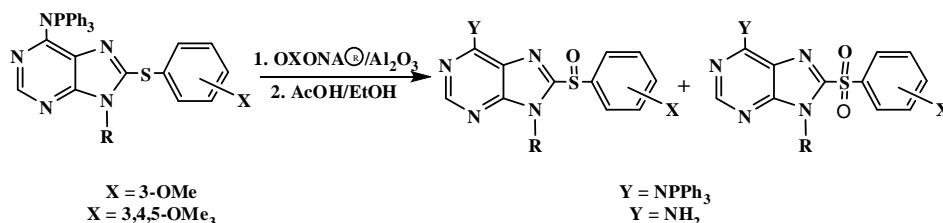


Schema 11

### III.1.4. Oxidare cu oxone

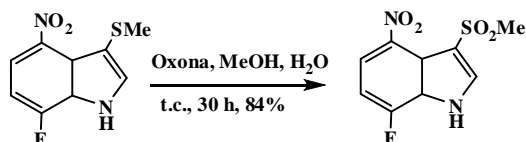
Oxona (denumirea comercială a amestecului de  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ ) este un oxidant larg utilizat atât în reacțiile de epoxidare a dublei legături cât și în reacțiile de oxidare a tioeterilor. Derivați 8-arilsulfanil adeninici în care gruparea amino din poziția 6 a fost complet protejată au fost oxidați cu succes la sulfonele corespunzătoare folosind ca oxidant oxona depusă pe oxid de aluminiu

[19]. Formarea de sulfoxid sau de sulfonă depinde de stoichiometria reacției: utilizarea unui exces de oxonă favorizează formarea de sulfonă. În unele cazuri se obține un amestec de sulfoxid-sulfonă, indiferent de cantitatea de oxonă introdusă în reacție (schema 12). Astfel de cazuri au fost observate când conținutul de apă din alumina nu a fost controlat atent. Înainte de reacție alumina se condiționează (48 h/ 120 °C) apoi se umezește; umezirea excesivă favorizează formarea de sulfoxid. În cazul formării de amestecuri, sulfoxidul și sulfona pot fi separate ușor prin cromatografie pe coloană de silicagel.



Schema 12

Sinteza sulfonelor unor derivați ai mercaptobenzimidazolului (posibili inhibitori ai JNK kinazelor), a utilizat cu succes oxona la temperatura camerei, fără a fi observată formarea sulfoxizilor [20], (schema 13).

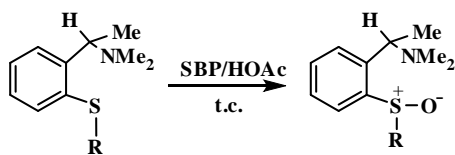


Schema 13

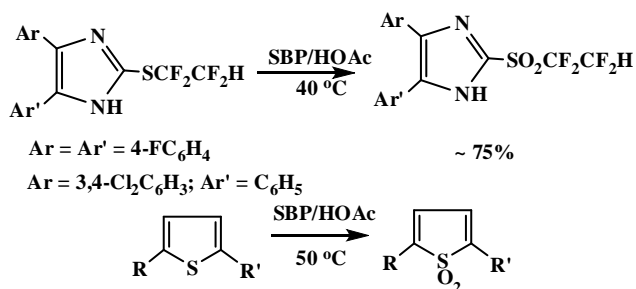
În cazul în care se folosesc solvenți organici clorurați, agentul oxidant este transformat în oxona de tetrabutilamoniu [(n-C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>)<sub>4</sub>N]HSO<sub>5</sub> [21]. Aceasta este un agent oxidant selectiv, sulfurile oxidându-se la sulfone în prezența altor funcțiuni organice precum amine, cetone, esteri, carbamați, olefine și hidroxili.

### III.1.5. Oxidare cu NaBO<sub>3</sub>, NaCO<sub>3</sub>

Perboratul de sodiu (SPB) (corespunzând formulei empirice NaBO<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O) și percarbonatul de sodiu (SPC) (a cărui formulă empirică este 2Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.3H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sunt compuși peroxigenați solizi, cu stabilitate excepțională, ieftini și ușor de procurat (în cantități mari fac parte din componența detergenților comerciali). Pentru a solubiliza acești compuși în mediu organic, în scopul folosirii lor ca agenți oxidanți, se adaugă acid acetic la mediul de reacție, generându-se astfel ionul percarboxilat in situ. Aceasta abordare a fost utilizată pe larg la oxidarea unor compuși precum tioli, selenoli, sulfuri, selenuri, aniline, amine, oxime, hidrazone etc. [22] (schema 14).



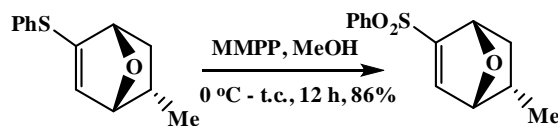




Schema 14

### III.1.6. Oxidare cu monoperoxifalat de magneziu (MMPP):

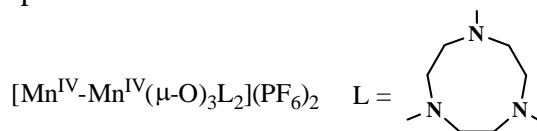
În sinteza subunității C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> a discodermolidului, compus natural cu acțiune antitumorală [23], una din etapele de sinteză presupune oxidarea tioeterului intermediar la sulfonă (schema 15). Cel mai eficient agent de oxidare a fost găsit monoperoxifalatul de magneziu (MMPP). Avantajele utilizării acestui agent constau în faptul că prezintă siguranță mai mare în manipulare decât m-CPBA, și nu necesită încercări preliminare de stabilire a raportului stoichiometric optim de oxidare, în plus lasă neafectată atât dubla legătură cât și ciclul tetrahidrofuranic din punte.



Schema 15

### III.1.7. Oxidare cu acid periodic (H<sub>5</sub>IO<sub>6</sub>) și catalizator binuclear pe bază de mangan

Acidul periodic este un agent oxidant bine cunoscut în chimia zaharurilor, oxidând diolii cu ruperea legăturii C-C. Utilizarea lui în oxidarea sulfurilor la sulfoxizii și sulfonele corespunzătoare este inedită [24]. În prezența complexilor binucleari de mangan de tipul: [Mn<sup>IV</sup>-Mn<sup>IV</sup>(μ-O)<sub>3</sub>L<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, unde L = 1,4,7-trimetil-1,4,7-triaza-ciclo-nonan (figura 3) acidul periodic oxidează selectiv sulfura la sulfoxid, respectiv sulfonă.



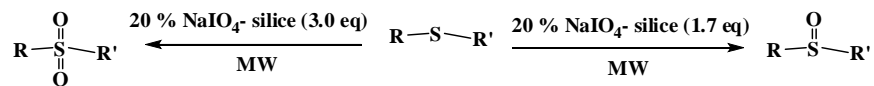
**Figura 3.** Structura complexilor binucleari de mangan de tipul: [Mn<sup>IV</sup>-Mn<sup>IV</sup>(μ-O)<sub>3</sub>L<sub>2</sub>](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>

O gamă largă de sulfuri dialchil, diaril, alchil-aril, ciclice (împiedicate steric) au fost oxidate selectiv și cu randamente foarte bune la sulfonele corespunzătoare în prezența dublelor legături și a grupărilor hidroxil neafectate (cu excepția aminelor).

#### A. Oxidare cu NaIO<sub>4</sub> la microunde, fără solvenți

O serie de sulfuri simetrice și asimetrice (alchil, aril, achil-aril) au fost oxidate selectiv și ușor fie la sulfoxizi, fie la sulfone, funcție de cantitatea de agent oxidant utilizată, cu randamente bune. Drept agent oxidant s-a folosit periodat de sodiu depus pe un suport umed de silice, reacția efectuându-se în condițiile “click chemistry” (microunde- 2450 MHz)[25] (schema 16). Autorii

clamează absența solventilor din procedura propusă, însă este destul de neclar modul prin care urmăresc reacția prin CSS. Separarea produșilor de reacție este simplă, produsul fiind recuperat prin simpla suspendare a silicei în acetat de etil.



Schema 16

### III.1.8. Alți agenți de oxidare

În obținerea sulfonelor prin oxidarea tioeterilor, literatura mai menționează utilizarea următorilor agenți oxidanți: NaClO [26]; tetroxid de osmiu (OsO<sub>4</sub>) în prezența 4-metilmorfolinoxidului [27]; hipocloritul de calciu (Ca(ClO)<sub>2</sub>) [28]; monopersulfatul de potasiu în mediu metanolic (KHSO<sub>5</sub>) [29], însă datorită lipsei de acces la articolele primare, contribuția reală la metodică de preparare a sulfonelor nu a putut fi evaluată.

### III.2. POSIBILITĂȚI DE OBTINERE A GLICOZILSULFONELOR PRIN OXIDAREA TIOGLICOZIDELOR

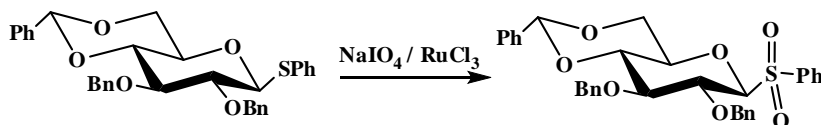
Deși în literatură se cunosc multe metode pentru oxidarea sulfurilor la sulfone, în cazul preparării glicozil sulfonelor, metodele menționate sunt cu mult mai puține. Se indică: utilizarea acidului metacloroperoxibenzoic (m-CPBA), bis(monoperoxifalat) de magneziu (MMPP), dimetildioxiran (DMD),  $\text{KMnO}_4$ /acid acetic, și  $\text{RuCl}_3/\text{NaIO}_4$ .

În general, oxidarea tioglicozidelor la sulfone se realizează cu cele mai bune rezultate folosind m-CPBA. Totuși această metodă are multe inconveniente, dintre care solubilitatea scăzută a acidului în diclorometan și dificultatea de a îndepărta produsul secundar de reacție (acidul m-clorobenzoic) din amestec.

Și alte metode de oxidare a tioglicozidelor la glicozil sulfone prezintă inconveniente precum condiții de reacție puternic acide, sau necesitatea unor temperaturi ridicate. De multe ori aceste condiții duc la îndepărtarea nedorită a grupelor protectoare ale zaharului.

#### III.2. 1. Oxidare cu $\text{NaIO}_4$

Cea mai menționată metodă de preparare a glicozilsulfonelor din tioglicozidele corespunzătoare este oxidarea cu periodat de sodiu într-un sistem bifazic (acetonitril/apă) în prezența unor cantități catalitice de clorură de ruteniu (schema 17)[30].

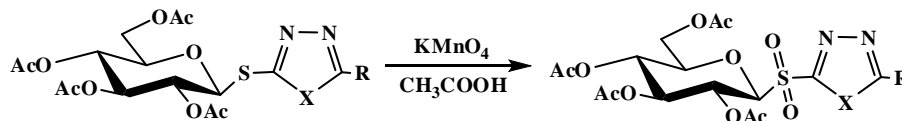


Schema 17

#### III.2.2. Oxidări cu $\text{KMnO}_4$

##### A. Oxidări cu permanganat de potasiu în mediu acid

Oxidarea S-glicozidelor 1,3,4-oxa- și respectiv 1,3,4-tiadiazolilor a fost raportată încă din 1977 [31]. O serie de S-glicozilsulfone ale 1,3,4-oxa- și respectiv 1,3,4-tiadiazolilor au fost obținute din S-glicozidele corespunzătoare peracetilate, folosind drept agent oxidant permanganatul de potasiu în mediu de acid acetic (schema 18).



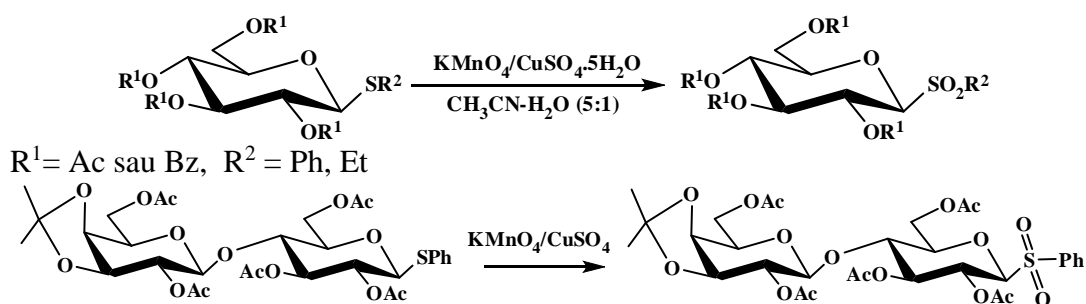
X = O, S

Schema 18

##### B. Oxidări cu permanganat de potasiu în mediu neutru

O metodă convenabilă de preparare a glicozilsulfonelor în condiții neutre folosește amestecul de  $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  [32]. Reacția de oxidare decurge cu randamente foarte bune și excelente în amestecul  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O} = 5:1$  la temperatura camerei, folosindu-se 2 echivalenți de  $\text{KMnO}_4$  / mol de

tioglicozidă (raportul molar  $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4 = 2:1$ ). Pe această cale s-au oxidat următoarele S-glicozide: S-fenil derivații peracetilați sau perbenzoilați ai gluco-, galacto-, xilo-piranozidelor; derivații peracetilați ai S-etil gluco- și manopiranozidelor, precum și 4,6-benzilidenacetali 2,3-acetilați ai gluco- și galactopiranozidelor; un derivat perbenzoilat al S-etil-6-O-TBDPS-galactopiranozei precum și derivați dizaharidici ai S-fenil-maltozei, respectiv lactozei peracetilate. Oxidarea S-fenil-3',4'-O-izopropiliden-lactozei peracetilate precum și a S-fenil-N-ftaloil-glucozei peracetilate demonstrează, alături de celelalte exemple, compatibilitatea condițiilor de oxidare cu grupele protectoare de tip izopropiliden, benziliden, tetrbutildifenilsilil, ftaloil, precum cu grupările protectoare mai stabile de tip acil (acetil, benzoil) (schema 19).



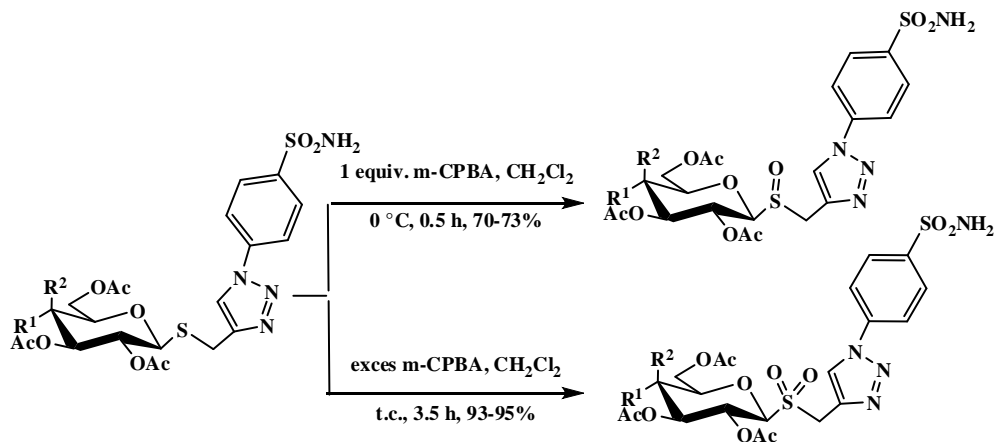
Schema 19

Se menționează expres că introducerea sării de cupru trebuie făcută concomitent cu cea a agentului de oxidare (permanganatul de potasiu), în caz contrar reacția de oxidare nu decurge până la formarea exclusivă a sulfonei.

### III.2.3. Oxidarea cu acid metacloroperoxibenzoic (m-CPBA):

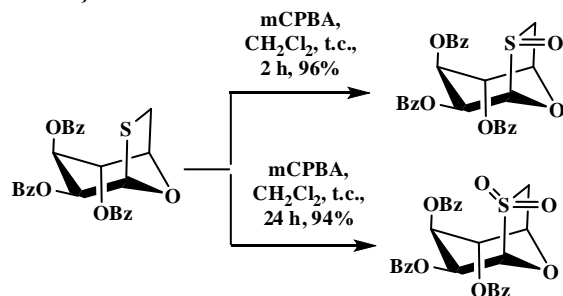
Acidul metacloroperoxibenzoic se poate utiliza cu succes la oxidarea tioglicozidelor la sulfonele corespunzătoare, abundența referințelor din literatură justificând denumirea metodei ca fiind „clasică”.

Oxidarea unor S-glicozil derivați ai (1)-para-sulfonamido-fenil-1,2,3-triazolilor a fost realizată cu succes folosind acidul metacloroperoxibenzoic comercial la temperaturi scăzute, în diclormetan [33]. Dirijarea reacției în sensul formării sulfoxizilor sau sulfonelor este reglată prin cantitatea de agent oxidant folosită și prin temperatură (schema 20). Procedul a fost aplicat atât S-glicozidelor peracetilate ale glucozei cât și ale galactozei cu randamente bune și foarte bune.



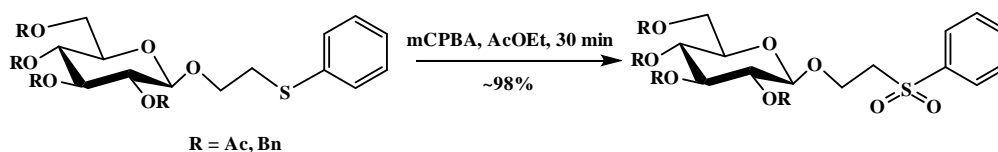
Schema 20

Utilizarea acidului metacloroperoxibenzoic în obținerea țintită a sulfoxizilor și sulfonelor, cu randamente excelente, a fost raportată și în cazul tiozaharurilor blocate conformațional, precum tiolevomanozanul și derivații acestuia [34] (schema 21). Dirijarea sintezei în sensul obținerii cu preponderență a sulfoxidului sau sulfonei este realizată prin cantitatea de oxidant folosită (pentru sulfoxizi raportul molar substrat: agent oxidant = 2.5, iar pentru sulfone raport molar substrat: agent oxidant = 6) și prin timpul de reacție.



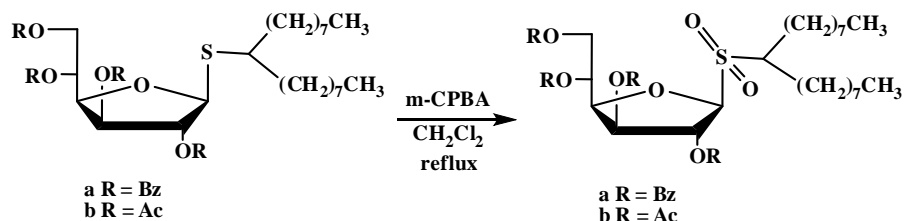
Schema 21

Oxidarea cu acid metacloroperoxibenzoic a fost aplicată cu succes și în cazul O-glicozidelor ce conțin o grupare tioeterică în aglicon [35]. De exemplu, la oxidarea 2-(S-benzil)etil-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozei cu 3.5 echivalenți m-CPBA/ mol de substrat se obține cu un randament excelent și într-un timp foarte scurt, la temperatura camerei sulfona corespunzătoare (schema 22). Spre deosebire de alte oxidări, solventul utilizat este acetatul de etil, care în acest caz particular compatibilizează atât agentul de oxidare cât și substratul.



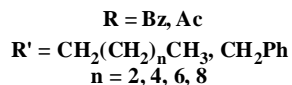
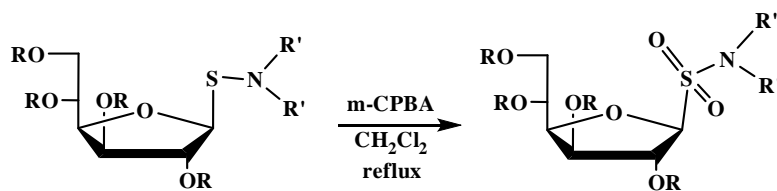
Schema 22

Aplicarea cu succes a oxidării tioglicozidelor cu acid metacloroperoxibenzoic a dat rezultate și în cazul formelor furanozice. Astfel la oxidarea 9-heptadecil-2,3,5,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-galactofuranozei cu acid metacloroperoxibenzoic (3 echivalenți m-CPBA/ echivalent tioglicozidă) în diclormetan la refluxul solventului se obțin sulfonele corespunzătoare în 2 ore [36](schema 23) cu randamente foarte bune.



Schema 23

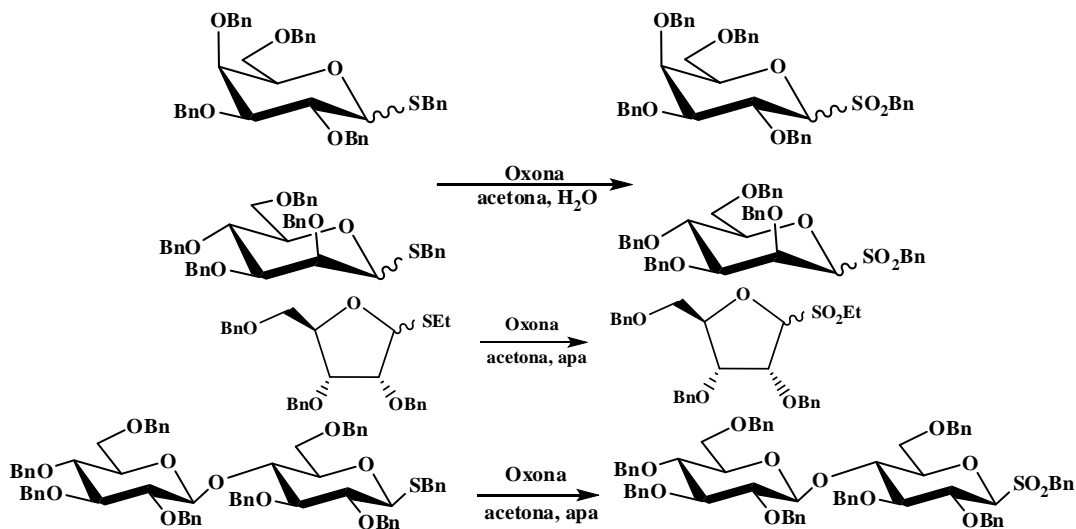
În cazul în care se oxidează N,N-dialchil (butil, hexil, octil) sulfenamidele 2,3,5,6-tetra-O-acetil-1-tio- $\beta$ -D-galactofuranozei cu același oxidant și în aceleași condiții, se obțin sulfonamidele N,N-disubstituite corespunzătoare (schema 24) [37].



Schema 24

### III.2.4. Oxidare cu oxone

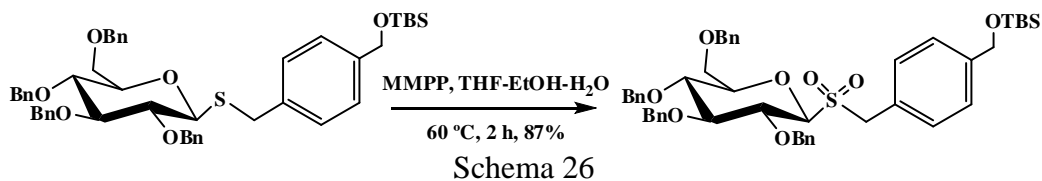
Oxidările sulfurilor cu oxonă în scopul obținerii sulfoxizilor (sulfonelor) au fost tratate în capitolul I.4. O serie de benzil-S-glicozide perbenzilate ale manozei și galactozei, S-etilglicozida ribozei perbenzilate precum și S-benzil-maltoza perbenzilată au fost oxidate cu oxonă într-un amestec acetonă:apă la refluxul solventului, obținându-se sulfonele corespunzătoare [38] (schema 25). Folosirea a 9 echivalenți oxonă/echivalent tioglicozidă asigură o transformare cantitativă a compușilor de start. Autorii nu discută folosirea într-un atât de mare exces a oxonei. Acesta se justifică prin formarea in situ a dimetiloxiranului acetonei care este probabil și agentul efectiv de oxidare. Aceasta supoziție este întărită și de faptul că nu se menționează utilizarea vreunui catalizator de transfer interfazic.



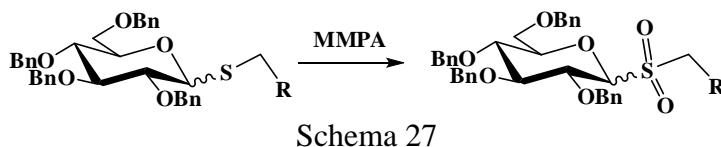
Schema 25

### III.2.5. Oxidare cu bis(monoperoxifalcat) de magneziu MMPP:

Oxidarea sulfurilor la sulfone prin utilizarea MMPP în cazul S-glicozidelor este ilustrată doar de două exemple în literatură. Preferința arătată pentru acest oxidant neuzual este justificată de stabilitatea mai mare a agentului oxidant precum și de normele de securitate. Într-un prim exemplu, oxidarea unei S-glicozide perbenzilate a glucopiranozei, are loc în prezența grupei protectoare tertbutilsilil, într-un amestec de tetrahidrofuran : alcool etilic: apă la refluxul solventului, obținându-se sulfona corespunzătoare cu un randament foarte bun [39] (schema 26)



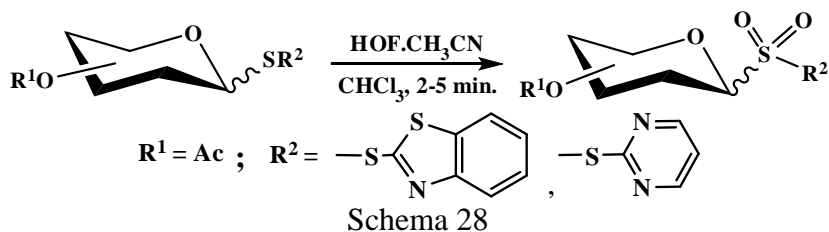
Un al doilea exemplu ilustrează oxidarea amestecului de anomeri ai S-benzil-glicozidelor glucozei, manozei, 2-deoxiglucozei, ramnozei, având ca grupe protectoare benzil sau metil, la sulfonele corespunzătoare, cu randamente variind între 75 -95 %. Nu se face nici un fel de mențiune asupra solventului, a raportului oxidant:substrat sau a timpilor de reacție [40] (schema 27)



### III.2.6. Oxidare cu HOF.CH<sub>3</sub>CN

Un agent inedit de oxidare, comunicat recent, este HOF.CH<sub>3</sub>CN. Acest agent nu este comercial și se prepară proaspăt prin barbotarea fluorului gazos (5% în azot) printr-o soluție CH<sub>3</sub>CN: H<sub>2</sub>O = 10:1 la temperatura de -15 °C. Se folosește pentru oxidare pe parcursul unei ore din momentul preparării. Cea mai rapidă reacție de obținere a sulfonelor decurge în 2 minute, după care masa de reacție se prelucrează uzual, iar sulfonele sunt izolate prin cromatografie flash [41] (schema 28).

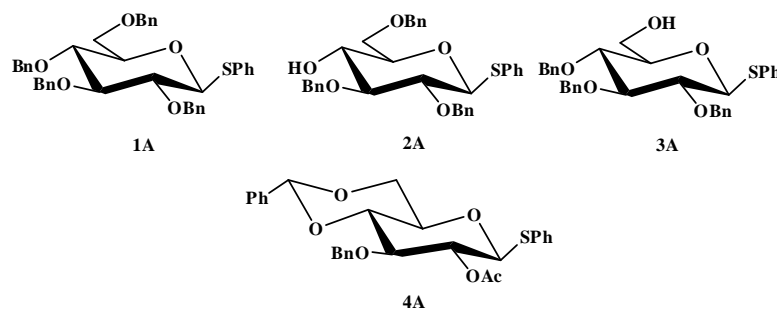
Pe această cale au fost oxidate o varietate foarte mare de tioglicozide precum: ciclohexilmetil-, 3-hidroxipropil-, benzotiazolil-, fenil- și 1,2-epoxipropil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-glucopiranoze; benzil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-manopiranoze; S-benzil-6-deoxi-2,3,4-tri-O-acetil-α-L-ramnopiranoza; hexenil-, metil-, 3-cianopropil, 2-oxo-2-feniletil- și pirimidinil-2,3,4,6-tetra-O-acetil-1-tio-β-D-galactopiranoze la sulfonele corespunzătoare. Se observă că agentul de oxidare este compatibil cu o serie întreagă de grupări funcționale care rămân neafectate.



**PARTE EXPERIMENTALĂ:**  
**III.3. STUDIUL REACȚIEI DE OXIDARE A TIOGLICOZIDELOR LA SULFONE PE**  
**COMPUȘI MODEL**

**III.3.1. Sinteza sintonilor S-glicozilați**

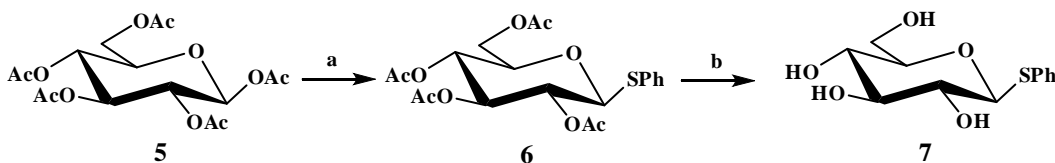
În vederea găsirii condițiilor optime de oxidare a S-glicozidelor 3-mercapto-1,2,4-triazolilor substituiți, o serie de S-fenil-tioglicozide au constituit compuși model în studiul reacției de obținere a sulfonelor corespunzătoare. S-fenil-tioglicozidele pot fi oxidate, așa după cum s-a arătat în capitolul **III.2**, atât la sulfoxizi cât și la sulfone, cu randamente medii spre foarte bune, funcție de condițiile de reacție alese. Problemele care apar și care fac obiectul atât de multor variante de oxidare sunt legate de integritatea grupelor protectoare, de definitivarea reacției și de obținerea unui singur produs de oxidare. Tioglicozidele alese pentru a fi testate (vezi schema 29) nu sunt reactivi de catalog, și prin urmare ele au fost sintetizate în mai multe etape, funcție de destinația finală a utilizării lor.



Schema 29

**III.3.2. Elemente de strategie a sintezei sintonilor 1A-3A:**

Compușii **1A** – **3A** pot fi sintetizați pornind de la fenil-1-tio-β-D-glucopiranoză (**7**) (schema 30). Nici acest reactiv nu este disponibil comercial și se prepară pornind de la 1,2,3,4,6-penta-O-acetil-β-D-glucopiranoză (**5**) printr-o secvență de 2 reacții (a și b în schema 30) cu randamente foarte bune la orice scară de greutate, așa după cum este prezentat în schema 30 [42]:

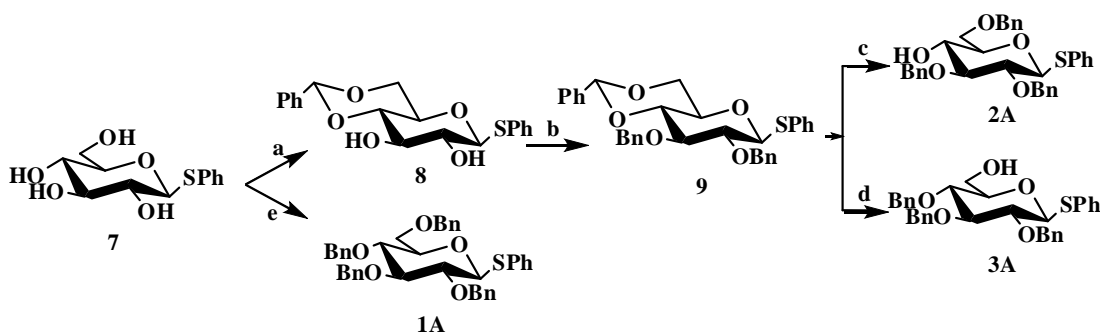


Schema 30

Condițiile de reacție precum și caracterizarea compușilor (**6**) și (**7**) a fost descrisă în detaliu în lucrarea publicată de doctorand [42].

Compușii **2A** și **3A** se obțin la rândul lor din intermediarul comun fenil-2,3-di-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză (**9**) prin deschiderea regioselectivă a acetalului benzilidenic (schema 31). Intermediarul benzilat (**9**) se obține din benzilidenacetalul S-glicozidei (**8**) prin benzilare totală (schema 31).

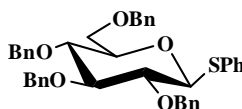




Schema 31

### A. Sinteza compusului (1A):

Compusul (1A) 2,3,4,6-tetra-O-benzil-S-fenil-glucoză se obține prin benzilarea exhaustivă a fenil-1-tio- $\beta$ -D-glucoziranozei (schema 31).



1A

**Tabelul 1.** Reactivi și rapoarte molare în reacția de benzilare a fenil-1-tio- $\beta$ -D-glucoziranozei

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli	Echiv.
fenil-1-tio- $\beta$ -D-glucoziranoză (7)	200	2.5		0.0125	1
Bromură de benzil	171	25.65	17.81	0.15	12 $\rho = 1.438 \text{ g/ml}$
Hidrura de sodiu (60% în parafină)	24	36		0.15	12
DMF			30		

#### Protocol:

Într-un balon de 50 ml prevăzut cu agitator magnetic, septum și balon cu Ar se adaugă compusul (7) dizolvat în DMF și apoi se adaugă bromura de benzil (tabelul 1). Amestecul de reacție se răcește la 0 °C apoi se adaugă hidrura de sodiu în porțiuni mici sub agitare timp de 15 minute. Controlul CSS al reacției se face cu sistemul (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt = 4:1). Când controlul CSS indică dispariția materialului de start (~12 ore, temperatura camerei) reacția este oprită prin adăugare de 3 ml MeOH sub agitare, la rece. Solvenții se îndepărtează la vid, cleiul rezultat se diluează cu DCM, iar stratul organic este spălat repetat cu cantități mici de apă în pâlnie de separare, se usucă pe CaCl<sub>2</sub> se filtrează, iar soluția organică este concentrată la sec la presiune redusă (rotavapor). Se obțin 7.8 g de pulbere albă, randamentul reacției este de 98.8%.

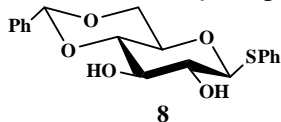
<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7.7–6.9 (m, 25H, 4xCH<sub>2</sub>Ph, SPh); 4.92 (2d, 2H, J<sub>gem</sub> = 11 Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.84 (2d, 2H, J<sub>gem</sub> = 10.2 Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.72 (d, 1H, J<sub>1,2</sub> = 9.8 Hz, H<sub>1</sub>); 4.7 (2d, 2H, J<sub>gem</sub> = 10.8 Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.55 (2d, 2H, J<sub>gem</sub> = 11.5 Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 3.8 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub> = 11 Hz, J<sub>6a,5</sub> = 2 Hz, H<sub>6a</sub>); 3.78 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub> = 11 Hz, J<sub>6b,5</sub> = 4Hz, H<sub>6b</sub>); 3.75 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub> = J<sub>3,2</sub> = 9 Hz, H<sub>3</sub>); 3.68 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub> = J<sub>4,5</sub> = 9 Hz, H<sub>4</sub>); 3.55 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub> = 9.8 Hz, J<sub>2,3</sub> = 9 Hz, H<sub>2</sub>); 3.53 (ddd, 1H, J<sub>5,4</sub> = 9Hz, J<sub>5,6a</sub> = 2 Hz, J<sub>5,6b</sub> = 4 Hz, H<sub>5</sub>);

MS(CI); m/z = 650 (M+NH<sub>4</sub>)

## B. Sinteza compușilor 2A și 3A:

Așa după cum s-a prezentat în schema 31, compușii (2A) și (3A) se obțin dintr-un intermediar comun (8). Acesta conduce după benzilare totală la intermediarul (9) care este supus deschiderii regioselective a ciclului acetalic benzilidenic în două condiții de lucru diferite, în vederea eliberării grupării hidroxilice de la C4, respectiv C6.

- Sinteza compusului (8): fenil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoza:



**Tabelul 2.** Reacția de protejare selectivă a fenil-1-tio-β-D-glucopiranozei (7)

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
fenil-1-tio-β-D-glucopiranoză (7)	200	4.5		22.5	1
Dimetilacetalul benzaldehidei	152	5.07	5	33.35	1.5 ρ = 1.014 g/ml
Acid camforsulfonic	232	Câteva cristale			
DMF			40		

Protocol:

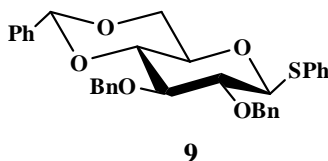
Într-un balon de 50 ml cu un gât se încarcă compusul (7) dizolvat în DMF, apoi se adaugă dimetilacetalul benzaldehidei și o cantitate catalitică de acid camforsulfonic (tabelul 2). Balonul se atașează prin intermediul dispozitivului Evans la rotavapor și la o temperatură a băii de 55 °C și se lasă la agitat sub vid timp de 12 ore. Urmărirea reacției se realizează prin CSS (benzen:AcOEt = 4:1). Când picul corespunzător materiei prime (7) dispăre, reacția se consideră definitivată, iar masa de reacție se lasă să se răcească la temperatura camerei. Mediul de reacție se neutralizează prin adăugarea a 2 ml trietilamină. După îndepărtarea solventului la rotavapor cu ajutorul toluenului, cleiul rezultat se diluează cu DCM, se spală cu apă, se usucă pe CaCl<sub>2</sub>, se concentrează și apoi se purifică prin cromatografie flash. Randamentul global este de 82%.

p.t. = 187-189 °C; lit. = 188-188.5 °C

<sup>1</sup>H-RMN(CDCl<sub>3</sub>): 7.65-7.25 (m, 10H, S-Ph, CHPh); 5.55 (s, 1H, CHC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.60 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10Hz, H<sub>1</sub>); 4.37 (ddd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=J<sub>5,6b</sub>=2.6Hz, J<sub>5,4</sub>=9.9Hz, H<sub>5</sub>); 4.15-3.88 (m, 5H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>)

În vederea reacției de oxidare a tioglicozidei la sulfonă, grupările hidroxil de la C2 și C3 sunt protejate prin trecerea acestora în eteri benzilici.

- Sinteza compusului (9): fenil 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză



**Tabelul 3.** Reacția de benzilare selectivă a fenil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranozei

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
fenil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoza ( <b>8</b> )	360	2.5		6.94	1
Bromură de benzil	171	3.5	2.5	20.46	3 ρ = 1.438 g/ml
Hidruură de sodiu (60% în parafină)	24	0.08		3.33	0.5
DMF			30		

Protocol:

Într-un balon de 50 ml prevăzut cu agitator magnetic se adaugă (**8**), bromura de benzil și DMF (tabelul 3). Amestecul de reacție se răcește la 0 °C apoi se adaugă hidruura de sodiu în porțiuni mici sub agitare timp de o oră. Amestecul de reacție se lasă la agitat la temperatura camerei până când controlul CSS (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt = 4:1) indică dispariția materiei prime. Reacția este oprită prin adăugare de 3 ml MeOH absolut sub agitare intensă și sub răcire cu gheață. Lichidul organic se îndepărtează la vid (până la greutate constantă), cleiul rezulat este apoi diluat cu DCM, spălat repetat în pâlnia de separare cu cantități mici de apă. După separarea fazei organice, aceasta se usucă pe CaCl<sub>2</sub> (sicc.), se decantează și se concentrează până la obținerea unui produs solid amorf. Produsul cristalizează din amestec de eter de petrol:AcOEt = 1:1. Randamentul reacției este de 95%.

P.t.=155-156 °C; lit.: 155-157 °C

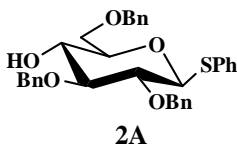
<sup>1</sup>H-RMN(CDCl<sub>3</sub>): 7.55-7.05 (m, 10H, S<sub>Ph</sub>, CH<sub>Ph</sub>); 5.63 (s, 1H, CHC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.89 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.1 Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.85 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.75 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.8Hz, H<sub>1</sub>); 4.40 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=10.5Hz, J<sub>6a,5</sub>=4.8Hz, H<sub>6a</sub>); 3.98–3.65 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.60-3.40 (m, 2H, H<sub>5</sub>, H<sub>2</sub>)

Deschiderea regioselectivă a benzilidenacetalilor (atât cu ciclu 1,3-dioxanic cât și cu ciclu 1,3-dioxolanic) a fost observată prima oară la tratarea acestora cu N-bromsuccinimidă [43]. Funcție de natura ciclului și de poziționarea acestuia, se obțin bromoderaivați benzoilați sau simpli benzoați. Deschiderea regioselectivă a ciclului benzilidenic 1,3-dioxanic are loc în condiții reductive cu formarea preferențială fie a derivatului 6-O-benzilat (deschiderea reductivă după Garegg [44], sau în varianta modificată a lui Samuelsson [45]) fie a derivatului 4-O-benzilat (deschiderea reductivă după Liptak [46]).

În primul caz, ca donor de ioni de hidruură se utilizează cianoborohidruura de sodiu iar compusul rezultat va prezenta o grupare hidroxilică liberă la C4, iar în al doilea caz, ca donor de ioni de hidruură se utilizează hidruura de litu și aluminiu, iar compusul rezultat va prezenta o grupare hidroxilică liberă la C6.

Mecanismul reacțiilor de deschidere reductivă a ciclurilor benzilidenice 1,3-dioxanice este încă în dezbateri.

- Sinteza compusului (**2A**): fenil 2,3,6-tri-O-benzil-1-tio-β-D-glucopiranoză (în varianta Samuelsson [45]):



**Tabelul 4.** Deprotejarea selectivă a grupării 4-OH fenil 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranozei

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
fenil 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză (9)	540	0.54		1	1
NaCNBH <sub>3</sub>	63	0.378		6	6
Me <sub>3</sub> SiCl	108.5	0.651		6	6
MeCN	41		26		

Protocol:

Într-un balon de 50 ml se adaugă rapid (9), MeCN\*, NaCNBH<sub>3</sub>\*\* și sită moleculară 4Å\*\*\*, balonul fiind închis cu un septum prevăzut cu priză de argon. Se răcește amestecul de reacție la 0 °C și cu ajutorul unei seringi se picură o soluție de Me<sub>3</sub>SiCl în MeCN (6 mL)(tabelul 4). Amestecul se agită timp de 5 ore la temperatura camerei, iar după ce controlul CSS (Tol:AcOEt = 2.5:1) indică dispariția lui (9), amestecul de reacție se diluează cu 25 ml acetonitril, se filtrează rapid pe Celită, iar filtratul se toarnă sub agitare peste o soluție apoasă saturată de NaHCO<sub>3</sub> la 0 °C. Faza organică se separă în pâlnia de separare iar faza apoasă se extrage repetat cu DCM. Extractele organice reunite se spală cu apă, se separă și se usucă peste Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru. După filtrare, faza organică se concentrează la rotavapor până la greutate constantă obținându-se un clei galben-portocaliu. Produsul brut este apoi supus separării și purificării prin cromatografie flash (Tol:AcOEt = 2:1). Se obține 0.41 g spumă albă care fără nici o încercare de cristalizare se angajează în etapa de acetilare. Randamentul = 76%.

<sup>1</sup>H-RMN (300MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.70-7.15 (m, 20H,); 4.95 și 4.78 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.4, CH<sub>2</sub>Ph); 4.9 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.4, H<sub>1</sub>); 4.86 și 4.75 (2d, J<sub>gem</sub>=11.2, CH<sub>2</sub>Ph); 4.60 (d, 2H, J<sub>gem</sub>=12.2, CH<sub>2</sub>Ph); 3.80 (dd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=4.4, J<sub>6a,b</sub>=12, H<sub>6a</sub>); 3.71 (dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=J<sub>4,3</sub>=9.2, H<sub>4</sub>); 3.62-3.38 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6b</sub>); 2.6 (bs, 1H, OH)

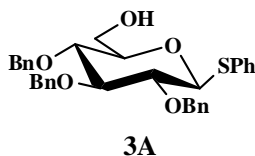
Comentarii:

\* acetonitrilul (Aldrich) utilizat este anhidrificat prin distilare de pe hidru de calciu sub atmosferă de argon.

\*\* reacția de deschidere regioselectivă a ciclului benzilidenic 1,3-dioxanic este foarte sensibilă la calitatea cianoborohidruului utilizate. Folosirea acestui reactiv dintr-un lot vechi (chiar în condițiile parafinării borcanului și ținerii acestuia într-un excicator peste P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) nu este recomandată (randamentul scade dramatic).

\*\*\* se recomandă folosirea sitei moleculare 4 Å sub formă de pulbere. Aceasta este activată prin încălzire la 280 °C timp de 48 ore sub vid iar apoi se manipulează sub argon.

- Sinteza compusului (3A): fenil 2,3,4-tri-O-benzil-1-tio-β-D-glucopiranoză (în varianta Liptak [46])



**Tabelul 5.** Deprotejarea selectivă a grupării 6-OH fenil 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranozei

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
fenil 2,3-di-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză (9)	540	3		5.55	1
LiAlH <sub>4</sub>	37	1		27.02	5
DCM			25		
Et <sub>2</sub> O			25+50		
AlCl <sub>3</sub>	132.5	3		22.64	4

Protocol:

Într-un balon de 250 ml prevăzut cu agitator magnetic se încarcă compusul (9), un amestec 1:1 de DCM\*:Et<sub>2</sub>O\*\* la temperatura camerei și se atașează un tricol prevăzut pe o ramură cu un refrigerent cu bule și închis pe celelalte două ramuri prin septumuri de cauciuc cu priză de argon. Se ridică temperatura amestecului la 40 °C (baie de glicerină) și se adaugă în mici porțiuni LiAlH<sub>4</sub> sub atmosferă de argon, astfel încât amestecul să fiarbă încet (tabelul 5). AlCl<sub>3</sub> anhidră\*\*\*, dizolvată în 50 ml Et<sub>2</sub>O anhidru, este adăugată în picături imediat după terminarea adăugării LiAlH<sub>4</sub> prin intermediul unei seringi. Se ridică temperatura la 45 °C și se refluxează amestecul timp de 3 ore.

Urmărirea reacției are loc prin CSS (Tol:AcOEt = 5:1) iar în momentul constatării dispariției lui (9) balonul conținând amestecul de reacție este răcit la 0 °C cu gheață. Excesul de hidrură este distrus prin adăugarea a 15 ml AcOEt la 0 °C. După circa 1 oră clorura de aluminiu este neutralizată prin adăugarea sub agitare intensă a 15 ml apă și a unei soluții de 40% NaOH până la dizolvarea completă a precipitatului format (hidroxidul de aluminiu trece în hidroxoaluminat de sodiu solubil în faza apoasă). Stratul organic se separă de faza apoasă în pâlnie de separare, apoi faza apoasă se extrage în mod repetat cu DCM. Extractele organice reunite se usucă peste CaCl<sub>2</sub> (sicc.) și se concentrează sub presiune redusă la rotavapor. Produsul obținut sub formă de clei se separă și se purifică prin cromatografie flash (toluen:AcOEt = 5:1). Randament = 84%.

P.t. 120-121<sup>0</sup>C, lit.[49] = 121.5-122 °C

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 7.48-7.15 (m, 20 H, SPh, 3xCH<sub>2</sub>Ph); 4.81 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=10.1Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.80 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=10Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.69 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=9.9Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.67 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=10Hz, H<sub>1</sub>); 3.80 (dddd, 1H, J<sub>6a,6b</sub> = 11.25Hz, J<sub>6a,OH</sub>=6.25Hz, J<sub>6a,5</sub>=2.5Hz, H<sub>6a</sub>); 3.68 (t, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=8.75Hz, H<sub>3</sub>); 3.63 (dddd, 1H, J<sub>6b,5</sub>=2.5Hz, J<sub>6b,OH</sub>=6.25Hz, H<sub>6b</sub>); 3.50 (t, 1H, J<sub>4,5</sub>=8.75Hz, H<sub>4</sub>); 3.49 (t, 1H, H<sub>2</sub>); 3.32-3.28 (m, 1H, H<sub>5</sub>).

Comentarii:

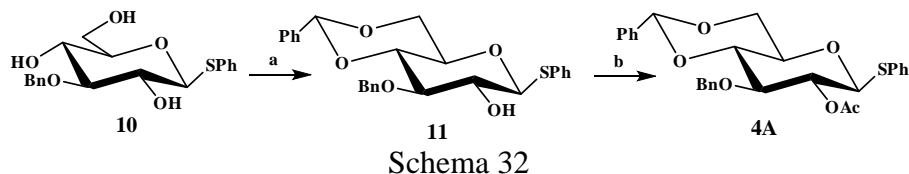
\* DCM este distilat sub argon peste P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> și se manipulează sub argon cu seringă.

\*\* Et<sub>2</sub>O obișnuit (Chimopar) este păstrat 2 săptămâni peste KOH solid (pentru îndepărtarea eventualelor urme de peroxizi) iar apoi spălat în pâlnia de separare cu apă (pentru îndepărtarea urmelor de alcool etilic). Faza organică se separă și se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru. Acest eter preliminar este apoi refluxat de pe benzofenonă și sodiu până când culoarea albastru cerneală a blazei indică absența oricărei urme de apă. Se distilă sub argon și se păstrează în sticlă închisă la culoare, parafinată.

\*\*\* reacția de deschidere regioselectivă a ciclului benzilidenic 1,3-dioxanic este foarte sensibilă la calitatea clorurii de aluminiu utilizate. Clorura de aluminiu se păstrează în exicator peste P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> în borcan parafinat. Cântărirea și manipularea ei (vezi dizolvarea în Et<sub>2</sub>O anhidru) este obligatoriu a se realiza sub pernă de argon (de preferință într-o zi cu soare și cu umiditate atmosferică mică).

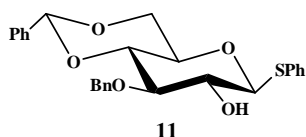
### C. Sinteza sintonului (4A)

Compusul (4A) se obține în două etape, pornind de la 3-O-benzil-1-tio-β-D-glucopiranoză (10), așa cum se prezintă în schema 32:



Intermediarul (10) neaccesibil comercial, a fost sintetizat la rândul său printr-o secvență de 5 reacții, pornind de la 1,2:5,6-di-izopropiliden-glucofuranoză (compus comercial). Condițiile de reacție, randamentele și caracterizarea intermediarilor (care nu fac obiectul acestui capitol) sunt prezentate în detaliu în [47].

- Sinteza compusului (11): fenil 3-O-benzil-4,6-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză



**Tabelul 6.** Protejare selectivă a 3-O-benzil-1-tio-β-D-glucopiranozei

Reactanți	Mr	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
3-O-benzil-1-tio-β-D-glucopiranoză (10)	362	1.8		4.97	1
Dimetilacetalul benzaldehidei	152	5.07	5	33.35	7 ρ = 1.014 g/ml
Acid camforsulfonic	232	catalitic			
DMF			40		

Protocol:

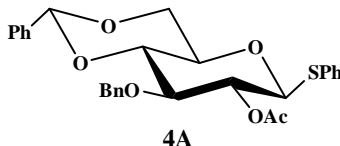
Într-un balon de 50 ml cu un gât se încarcă compusul (10) dizolvat în DMF, apoi se adaugă dimetilacetalul benzaldehidei și o cantitate catalitică de acid camforsulfonic. Balonul se atașează prin intermediul dispozitivului Evans la rotavapor și la o temperatură a băii de 55 °C și se la să la agitat sub vid timp de 12 ore. Urmărirea reacției se realizează prin CSS (Tol:AcOEt = 3:1). Când picul corespunzător materiei prime (10) dispăre, reacția se consideră încheiată, iar masa de reacție se lasă să se răcească la temperatura camerei. Mediul de reacție se neutralizează prin adăugarea a 2 ml trietilamină. După îndepărtarea solventului la rotavapor cu ajutorul toluenului, cleiul rezultat se diluează cu 50 ml DCM, se spală cu apă, se usucă pe CaCl<sub>2</sub>, se concentrează și apoi se purifică prin cromatografie flash (Tol:AcOEt = 3:1). Randamentul global e de 70%.

Caracteristici ale compusului 11:

P.t. = 121-122.5 °C (MeOH); lit. [48] P.t. = 120.5-121.5 °C (Et<sub>2</sub>O/C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 7.60-7.20 (m, 15H, CHPh, CH<sub>2</sub>Ph, SPh); 5.56 (s, 1H, CHPh); 4.88 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.51Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.64 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.70Hz, H<sub>1</sub>); 4.42 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=10.4Hz, J<sub>6a,5</sub>=4.90Hz, H<sub>6a</sub>); 3.82 (t, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=10.02Hz, H<sub>3</sub>); 3.70-3.40 (m, 4H, H<sub>2</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6b</sub>)

- Sinteza compusului (4A): fenil 2-O-acetil-3-O-benzil-4,6-O-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză



**Tabelul 7.** Acilare selectivă a fenil 3-O-benzil-4,6-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranozei

Reactanți	MM	m(g)	V (ml)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
fenil 3-O-benzil-4,6-benziliden-1-tio-β-D-glucopiranoză (11)	450	1.6		3.55	1
4,4-DMAP		Catalitic			
Anhidridă acetică	102	10.8	10	105.88	30 ρ = 1.08 g/ml
Py			25		

Protocol:

Într-un balon de 50 ml se solubilizează (11) în piridină\* și se adaugă cantități catalitice de 4,4-DMAP. Balonul se închide cu un septum cu priză de argon, se răcește la 0 °C și se picură cu ajutorul unei seringi în timp de 5 min 10 ml anhidridă acetică proaspăt distilată. După 4 ore controlul CSS (Tol:AcOEt = 3:1) indică dispariția materialului de start. Excesul de anhidridă se neutralizează prin adăugarea a 15 ml metanol. Faza lichidă se îndepărtează la presiune scăzută și uleiul rezultat se purifică prin cromatografie flash (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:AcOEt = 3:1). Se obțin 1.69 g produs (4A). Randament = 96%.

P.t.= 164 °C (metanol)

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>): 7.60-7.20 (m, 15H, CHPh, CH<sub>2</sub>Ph, SPh); 5.58 (s, 1H, CHPh); 5.42 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=9.8Hz, J<sub>2,3</sub>=9Hz, H<sub>2</sub>); 4.78 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=12.01Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.72 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.8Hz, H<sub>1</sub>); 4.39 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=10.40Hz, J<sub>6b,5</sub>=4.92Hz, H<sub>6b</sub>); 3.80 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=10.21Hz, H<sub>3</sub>); 3.75-3.40 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6a</sub>); 2.55 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO)

Comentarii:

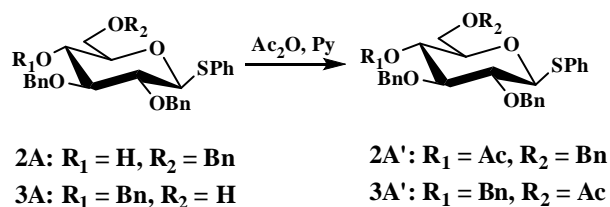
\* piridina este păstrată pe KOH și după separare în pâlnie de faza apoasă se distilă de pe CaH<sub>2</sub> sub argon. Se păstrează în vas închis la culoare, parafinat, aproximativ o lună de zile.

#### D. Sinteza derivaților acetilați 2A' și 3A'

În vederea obținerii sulfonelor S-fenilglicozidelor 1A – 4A, sintonii 2A și 3A sunt trecuți în derivații lor acetilați 2A' și 3A' pentru a evita apariția unor reacții secundare ce ar afecta funcțiile hidroxilice de la C4, respectiv C6 (schema 33). Compusii 2A' și 3A' s-au obținut prin reacția de acetilare condusă în piridină în prezență de 4,4-DMAP iar protocolul de reacție și prelucrare ulterioară în vederea izolării a fost comunicat anterior [47].



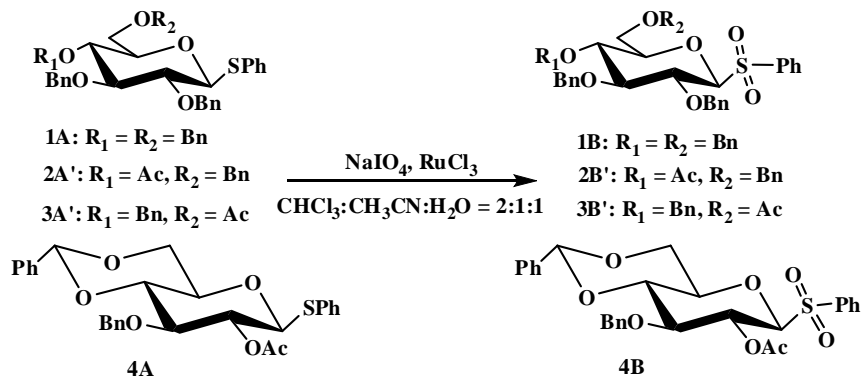
Cum reacțiile de protejare prin acetilare sunt bine stăpânite în chimia hidraților de carbon și decurg exhaustiv, fără apariția de produși secundari, produșii acetilați obținuți au fost caracterizați doar prin MS iar puritatea lor dovedită prin analiza CSS, a permis angajarea lor în faza de oxidare fără nici un fel de purificare ulterioară.



Schema 33

### III.3.3. Oxidarea tioglicozidelor la sulfonele corespunzătoare

Tioglicozidele (**1A**), (**2A'**), (**3A'**) și (**4A**) (schema 34) au fost oxidate în varianta cu periodat și utilizând drept catalizator  $RuCl_3$ .



Schema 34

Protocol general de oxidare a tioglicozidelor 1A-4A la sulfone:

1 mmol compus se dizolvă în 15 ml amestec  $CHCl_3:CH_3CN:H_2O = 2:1:1$ . Se adaugă 3.3 mmoli periodat de sodiu și cantități catalitice de clorură de ruteniu(III) sub agitare la temperatura camerei. După aproximativ 1 oră, controlul CSS (Tol:AcOEt = 2.5:1) indică terminarea reacției. Amestecul se diluează cu 20 ml DCM și stratul organic se spală în mod repetat cu apă, apoi se usucă pe  $CaCl_2$  și se concentrează. Faza amorfă recrystalizează din MeOH.

- caracteristici compus (**1B**): 2,3,4,6-tetra-O-benzil- $\beta$ -D-glucopiranozil-fenil sulfonă -

P.t. 135-136 °C

$^1H$ -RMN: 7.92-7.06 (m, 25H,  $H_{ar}$ ); 5.04 și 4.77 (2d, 2H,  $J_{gem}=11.1$ ,  $OCH_2Ph$ ); 4.88 și 4.84 (2d, 2H,  $J_{gem}=11.1$ ,  $OCH_2Ph$ ); 4.72 și 4.50 (2d, 2H,  $J_{gem}=11.1$ ,  $OCH_2Ph$ ); 4.35 (d, 1H,  $J_{1,2}=8.2$ ,  $H_1$ ); 4.32 și 4.26 (2d, 2H,  $J_{gem}=11.1$ ,  $OCH_2Ph$ ); 4.03 (dd, 1H,  $J_{1,2}=J_{2,3}=8.2$ ,  $H_2$ ); 3.70 (dd, 1H,  $J_{3,4}=J_{3,2}=8.2$ ,  $H_2$ ); 3.59-3.39 (m, 3H,  $H_4, H_{6a}, H_{6b}$ ); 3.28 (m, 1H,  $H_5$ )

$^{13}C$ -RMN: 138.18, 138.04, 137.75, 137.57, 137.16 ( $5C, C_q$ ); 133.91-127.59 ( $C_{Ar}$ ); 91.11 (1C, C1); 86.26, 79.66, 77.62, 76.95 (4C, C2, C3, C4, C5); 75.94, 75.47, 75.10, 73.46, 68.57 (5C,  $4xCH_2Ph$ , C6)

MSCI  $m/z = 682$  (M+18)

- caracteristici compus (**2B'**): 4-O-acetil-2,3,6-tri-O-benzil- $\beta$ -D-glucopiranozil -fenil sulfonă -  
 Spumă albă



**<sup>1</sup>H-RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.8-7.2 (m, 25H, H<sub>Ar</sub>); 4.90 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.79 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=10.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.60 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=12.0Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.33 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.7Hz, H<sub>1</sub>); 4.30 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=12.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.12 (dd, J<sub>3,2</sub>=8.7Hz, H<sub>2</sub>); 3.77 (dd, J<sub>3,4</sub>=8.7Hz, H<sub>3</sub>); 3.62-3.43 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.29 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO)

**<sup>13</sup>C-RMN** (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): 169.26 (1C, CH<sub>3</sub>CO); 138.18, 138.04, 137.16, 137.07 (5C, C<sub>qar</sub>); 133.92-127.58 (25C, CH<sub>ar</sub>); 91.11 (1C, C1); 86.25, 79.66, 77.61, 76.35 (4C, C2, C3, C4, C5); 75.94, 75.47, 75.11, 73.45 (4C, OCH<sub>2</sub>Ph); 21.88 (1C, CH<sub>3</sub>CO).

**MSCI(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)**, *m/z* = 724(M+18)

- caracteristici compus (**2B**): 2,3,6-tri-O-benzil-β-D-glucopiranozil -fenil sulfonă -  
p.t. = 135-136 °C

**<sup>1</sup>H-RMN** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.9-7.1 (m, 25H, H<sub>Ar</sub>); 4.92 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.86 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=10.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.61 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=12.0Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.34 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.7Hz, H<sub>1</sub>); 4.29 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=12.2Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.02 (dd, J<sub>3,2</sub>=8.7Hz, H<sub>2</sub>); 3.70 (dd, J<sub>3,4</sub>=8.7Hz, H<sub>3</sub>); 3.60-3.40 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.27 (m, 1H, H<sub>5</sub>);

**<sup>13</sup>C-RMN** (75MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.18, 138.04, 137.16, 137.07 (5C, C<sub>qar</sub>); 133.92-127.58 (25C, CH<sub>ar</sub>); 91.11 (1C, C1); 86.25, 79.66, 77.61, 76.35 (4C, C2, C3, C4, C5); 75.94, 75.47, 75.11, 73.45 (4C, OCH<sub>2</sub>Ph)

**MSCI(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)**, *m/z* = 682(M+18).

- Caracteristici compus (**3B'**): 6-O-acetil-2,3,4-tri-O-benzil-β-D-glucopiranozil fenil sulfonă -  
p.t. = 128-129 °C (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)

**<sup>1</sup>H-RMN**(CDCl<sub>3</sub>): 7.90-7.10 (m, 20H, 3xCH<sub>2</sub>Ph, SO<sub>2</sub>Ph); 4.91 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=10Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.81 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.20Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.63 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.20Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.30 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.7Hz, H<sub>1</sub>); 4.12-4.02 (m, 2H, H<sub>6a</sub>, H<sub>2</sub>); 3.94 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12Hz, J<sub>6b,5</sub>=6.25Hz, H<sub>6b</sub>); 3.70 (t, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=8.75Hz, H<sub>3</sub>); 3.40 (t, 1H, J<sub>4,5</sub>=J<sub>4,3</sub>=8.75Hz, H<sub>4</sub>); 3.30 (dddd, 1H, J<sub>5,4</sub>=8.75Hz, J<sub>5,6a</sub>=10Hz, H<sub>5</sub>); 1.80 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 170.01 (1C, CH<sub>3</sub>CO); 137.80, 137.21, 137.06, 136.80 (4C, C<sub>qar</sub>); 133.70 – 127.40 (20C, 3xCH<sub>2</sub>Ph, SO<sub>2</sub>Ph); 90.44 (1C, C1); 85.901, 77.30, 77.17, 76.53 (4C, C2, C3, C4, C5); 75.74, 75.34, 74.91 (3C, 3xCH<sub>3</sub>Ph); 62.14 (1C, C6); 20.45 (1C, CH<sub>3</sub>CO).

- Caracteristici compus (**3B**): 2,3,4-tri-O-benzil-β-D-glucopiranozil-fenil sulfonă –  
P.t. = 122-123.5 °C, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)- din lucrare

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>): 7.90-7.15 (m, 20H, 3xCH<sub>2</sub>Ph, SO<sub>2</sub>Ph); 4.90 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=10Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.85 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.20Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.63 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.20Hz, CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.35 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.7Hz, H<sub>1</sub>); 4.05 (t, 1H, J<sub>2,3</sub>=8.75Hz, H<sub>2</sub>); 3.72 (t, 1H, J<sub>3,4</sub>=8.75Hz, H<sub>3</sub>); 3.60-3.35 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.20 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 1.60 (s, 1H, OH)

**<sup>13</sup>C-RMN** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 138.18, 137.65, 137.57, 137.34 (5C, SO<sub>2</sub>Ph); 134.31-127.77 (10C, CH<sub>2</sub>Ph); 90.85 (1C, C1); 86.16 (1C, C2); 80.19 (1C, C3); 77.67 (1C, C4); 76.86 (1C, C5); 76.05, 75.56, 75.24 (3C, 3xCH<sub>2</sub>Ph); 61.76 (1C, C6).

- Caracteristici compus: (**4B**): (2-O-acetil-3-O-benzil-4,6-O-benziliden-β-D-glucopiranozil) -fenil sulfonă -

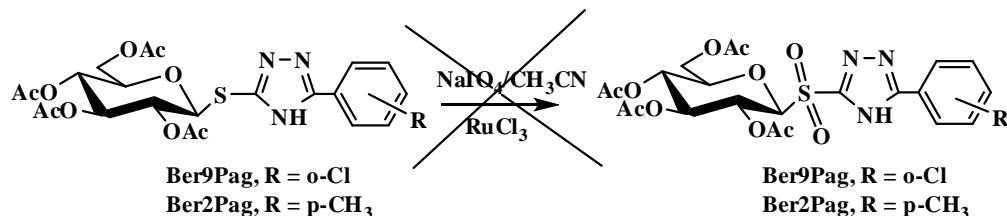
P.t. = 187 °C (MeOH)

**<sup>1</sup>H-RMN** (CDCl<sub>3</sub>): 8.08-7.22 (m, 15H, CHPh, CH<sub>2</sub>Ph, SO<sub>2</sub>Ph); 5.52 (s, 1H, CHPh); 5.25 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=9.7Hz, J<sub>2,3</sub>=8.9Hz, H<sub>2</sub>); 4.73 (2d, 2H, J<sub>gem</sub>=11.8Hz, CH<sub>2</sub>Ph); 4.50 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.7Hz, H<sub>1</sub>); 4.34 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=10Hz, J<sub>6b,5</sub>=5Hz, H<sub>6b</sub>); 3.77 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=8.9Hz, J<sub>3,4</sub>=8.7Hz, H<sub>3</sub>); 3.7-3.4 (m, 3H, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>, H<sub>6a</sub>); 2.05 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO)

### III.4. ÎNCERCĂRI PRELIMINARE DE OXIDARE PE S-GLICOZIDELE MERCAPTOTRIAZOLILOR

#### III.4.1. Oxidare cu periodat de sodiu

În vederea obținerii sulfonelor corespunzătoare S-glicozidelor peracetilate ale mercaptotriazolilor, compusul Ber9Pag a fost oxidat în condițiile oxidării S-fenilglicozidelor model (vezi paragraful III.3.3). Oxidarea cu  $\text{NaIO}_4$  în prezența unei cantități catalitice de  $\text{RuCl}_3$  și folosind ca mediu de reacție  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{CHCl}_3:\text{H}_2\text{O} = 1:2:1$  nu conduce nici la sulfoxizii diastereomeri, nici la sulfonă (schema 35).



Schema 35

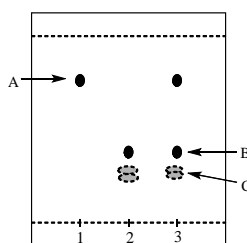
a) Prima încercare de oxidare s-a realizat pe S-glicozida Ber9Pag (R = o-clor) fără a se observa avansul reacției. Deoarece influența atomului de clor substituit în poziția orto a inelului aromatic nu a putut fi estimată în ceea ce privește receptivitatea substratului față de agentul de oxidare, s-a încercat oxidarea compusului Ber2Pag (R = p-CH<sub>3</sub>). În ambele situații nu s-a observat formarea nici a sulfoxizilor nici a sulfonelor corespunzătoare (control CSS).

b) În primă instanță s-a variat cantitatea de agent oxidant ( $\text{NaIO}_4$ ), fără însă a se observa formarea vreunui produs de oxidare la controlul CSS (Tol:AcEt = 1:1)(chiar în condițiile în care s-a lucrat cu 10 echivalenți de  $\text{NaIO}_4$  la un echivalent de tioglicozidă).

c) O altă ipoteză de lucru a fost aceea că anionul periodat se află în concentrație foarte mică în faza organică și prezența unui catalizator interfazic ar fi binevenită. În acest sens au fost încercați următorii catalizatori de transfer interfazic: iodura de tetrabutilamoniu ( $\text{Bu}_4\text{NI}$ ), hidrogensulfat de tetrabutilamoniu (TBASH). Indiferent de cantitatea de catalizator de transfer interfazic folosită, nu s-a observat obținerea vre-unui produs de oxidare (sulfoxid sau sulfonă).

d) Deoarece catalizatorul clorură de ruteniu este foarte scump, s-a încercat utilizarea clorurii ferice sau a clorurii de rodiu, fără nici un rezultat.

e) În final s-a încercat creșterea cantității de catalizator. Într-un experiment pilot s-a utilizat receptura care a dat rezultate foarte bune în cazul tioglicozidelor model, variindu-se cantitatea de catalizator prin adăugarea de cantități suplimentare în tranșe de 2 miligrame (tabelul 8). Paradoxal, atunci când cantitatea de catalizator exprimată în moli a depășit cantitatea de substrat (0.11 mmoli cat. > 0.1 mmoli Ber2Pag), în condițiile în care cantitatea de oxidant ( $\text{NaIO}_4$ ) a rămas constantă, controlul CSS (Tol:AcOEt = 9:1) a indicat prezența atât a sulfoxizilor cât și a sulfonei corespunzătoare tioglicozidei oxidate ( $R_f$  material de start =0.76,  $R_f$  sulfonă =0.38,  $R_f$  sulfoxizi = 0.28, 0.26)( figura 4).



- 1 = materia primă (A)  
 2 = reacția de oxidare (B) = sulfona de interes (C) = amestec de sulfoxizi  
 3 = material de start + reacție

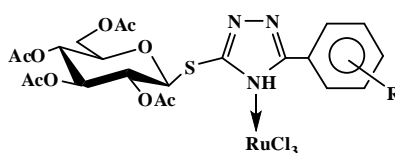
**Figura 4.** Controlul CSS al reacției de oxidare a compusului Ber2Pag cu periodat de sodiu după adăugarea a unui mare exces de catalizator

Reacția de oxidare a avut loc până la consumarea completă a materialului de start, după 48 ore, cu obținerea preponderentă a sulfonei, dar cu urme de sulfoxizi neoxidați ( $R_f$  sulfoxizi = 0.28, 0.26). Orice încercare de definitivare a reacției prin adăugare de agent oxidant suplimentar conjugată cu adaosul suplimentar de solvenți a eșuat, probabil datorită scăderii concentrației reactanților. Pentru modul de lucru a se vedea protocolul de la paragraful III.3.

**Tabelul 8.** Reactivi și cantități la oxidarea Ber2Pag cu periodat de sodiu

Reactiv	MM	m(mg)	Moli $\times 10^{-3}$	Echiv.	Vol.(mL)
Ber2Pag	521	52	0.1	1	
NaIO <sub>4</sub>	214	86	0.4	4	
RuCl <sub>3</sub>	207.5	2 → 24	0.009 → 0.11		
CH <sub>3</sub> CN					1 → 2
CHCl <sub>3</sub>					2 → 4
H <sub>2</sub> O					1 → 2

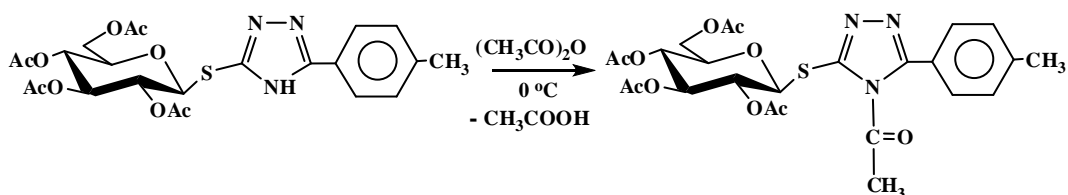
În urma acestui studiu s-a conturat ipoteza că unul din atomii de azot ai ciclului 1,2,4-triazolic coordonează cationul de ruteniu împiedicând astfel activitatea sa catalitică (schema 36).



Schema 36

### A. Încercări de acilare a nucleului triazolic din S-glicozide

Pentru a verifica ipoteza de lucru, ne-am propus să acilăm funcțiunea aminică din ciclul 1,2,4-triazolic. Reacția de acilare a aminelor primare și secundare decurge fără probleme folosind anhidride sau cloruri acide [50]. În acest caz s-a folosit ca agent de acilare anhidrida acetică, iar ca solvent piridina (schema 37).



Schema 37

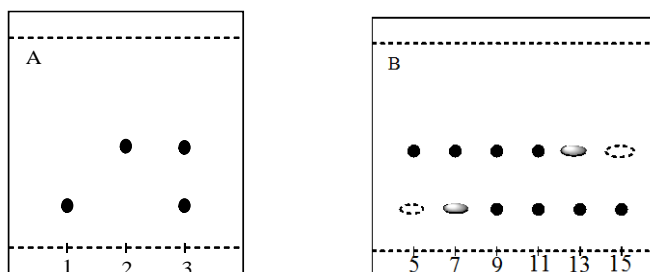
**Tabelul 9.** Calculul cantităților de reactivi pentru acilare

Reactanți	MM	m (g)	V (mL)	Moli $\times 10^{-3}$	Echiv.
Ber 2Pag	521	0.1		0.2	1
Py	79	3.92	2+2	49	245 (0.98 g/mL)
Anhidridă acetică	102	2.16	1+1	21	105 (1.08 g/mL)

Protocol:

Într-un balon de 10 mL prevăzut cu agitator magnetic se dizolvă Ber2Pag în 2 mL piridină proaspăt distilată (de pe KOH), se închide vasul de reacție cu un septum și se adaugă priza de argon. Volumul de anhidridă acetică se adaugă prin intermediul unei seringi în picături timp de o oră. Când controlul CSS (AcOEt:Tol = 1:1, Rf material de start = 0.40, Rf = 0.57) indică dispariția materiei prime (reacția e cantitativă), balonul se cufundă în gheață și sub agitare puternică se injectează în picături 3 mL MeOH absolut (în vederea distrugerii excesului de anhidridă). Faza organică se îndepărtează prin evaporare la presiune scăzută (rotavapor) la o temperatură a băii nu mai mare de 45 °C. Produsul amorf obținut este purificat în continuare prin FC (Tol:AcOEt = 7:3, Rf = 0.48, Rf material de start = 0.2)(figura 5 A).

În timpul controlului CSS al separării produsului pe coloană s-a constatat că alături de produs (Rf = 0.48) apare în mod inexplicabil și picul corespunzător materiei prime (Rf = 0.2)(figura 5 B). S-a estimat pentru început că condițiile de separare au fost impropriu alese (raportul amestec de separare:diametru coloană), s-a golit coloana, s-a reconcentrat amestecul de reacție și a fost aleasă o coloană cu diametru mai mare. Rezultatele controlului CSS în timpul separării indică nu numai faptul că atât produsul de reacție cât și materia primă se eluează împreună, ba chiar mai mult, inspecția în UV a plăcilor de control indică o intensificare a picurilor corespunzătoare materiei prime.



1 – materia primă

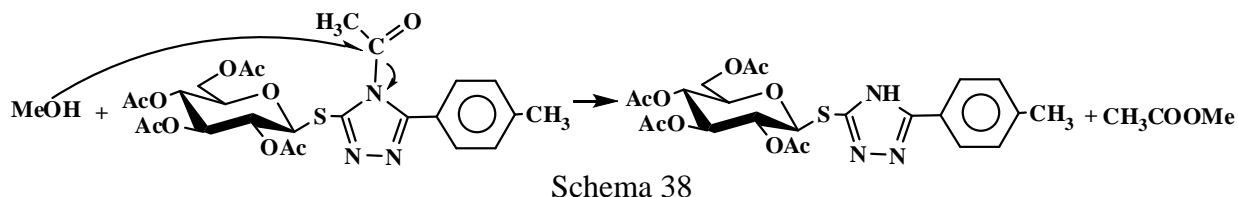
2 – amestecul de reacție

3 – sumă între materie primă și reacție.

5, 7, 9, 11, 13, 15 – fracțiuni colectate de pe coloana de separare, controlate prin CSS

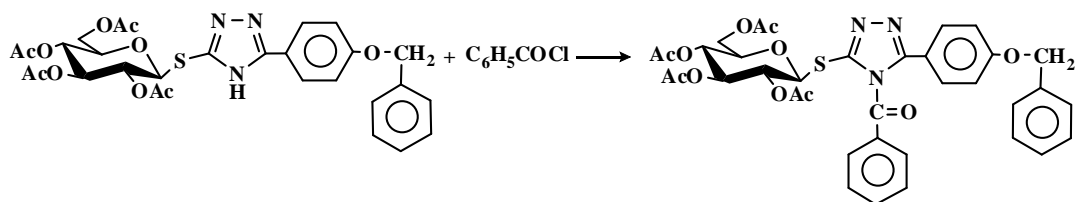
**Figura 5.** Aspectul plăcuțelor CSS în cazul verificării reacției de acilare (A) și al verificării separării pe coloană a produsului de reacție (B)

Reacția de acilare a fost reluată și urmărită îndeaproape nu numai în timpul desfășurării reacției, ci și în fiecare etapă premergătoare separării pe coloană. Și în al doilea experiment reacția a decurs cantitativ (prin raportare la controlul CSS) dar surpriza a apărut după controlul distrugerii excesului de anhidridă prin adăugare de metanol. S-a constatat că după această etapă controlul CSS indică deja prezența în amestecul de reacție a materiei prime. S-a dedus de aici că triazolul acilat este un foarte bun agent de acilare cedând grupa acil metanolului în postură de acceptor (schema 38). Concluzia imediată a fost aceea că faza de distrugere a excesului de anhidridă prin adaosul de metanol trebuie evitată.



Într-un alt experiment de acilare, după controlul CSS care a indicat transformarea completă a produsului de start (Ber2Pag), piridina și excesul de anhidridă acetică din masa de reacție au fost îndepărtate la presiune scăzută (rotavapor) și antrenate prin adaos de toluen (azeotrop ternar cu Py și Ac<sub>2</sub>O). Produsul solid obținut a fost uscat sub vid timp de 48 ore înainte de a fi încărcat pe coloană în vederea separării compusului acetat. Separarea a fost condusă în condițiile primului experiment (Tol:AcOEt = 7:3) iar controlul CSS al separării a indicat și de această dată prezența atât a produsului acetat cât și a materiei prime. S-a concluzionat că până și urmele de apă prezente în silicagelul utilizat la separare (200-400 mesh) sunt suficiente pentru a descompune produsul acetat.

În vederea obținerii unei amide substituie mai stabile, Ber13Pag a fost supus procesului de acilare cu clorură de benzoil (schema 39).



**Tabelul 10.** Reactivi și cantități necesare reacției de benzoilare

Reactanți	MM	m(g)	V (mL)	Moli x10 <sup>-3</sup>	Echiv.
Ber13Pag	613	0.05		0.08	1
Py	79		2		
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -COCl	140.5	0.017	0.014	0.12	1.5(1.21 g/ml)

Protocol:

Într-un balon de 25 mL prevăzut cu agitator magnetic se dizolvă Ber13Pag în 2 mL Py proaspăt distilată de pe KOH. Balonul se închide cu un septum cu priză la gaz inert (azot sau argon), se scufundă în gheață și sub agitare se picură cu seringă clorură de benzoil. Masa de reacție devine din transparentă lăptoasă. Control CSS: Tol:AcOEt = 1:1 (Rf material de start = 0.46, Rf produs = 0.71). Se încearcă și alte sisteme: Tol (Rf=0), Tol:AcOEt = 2:1 (Rf = 0.63), Tol:AcOEt = 3:1 (Rf = 0.54), Tol:AcOEt = 4:1 (Rf = 0.46). Când CSS indică consumarea completă a materiei prime, solvenul

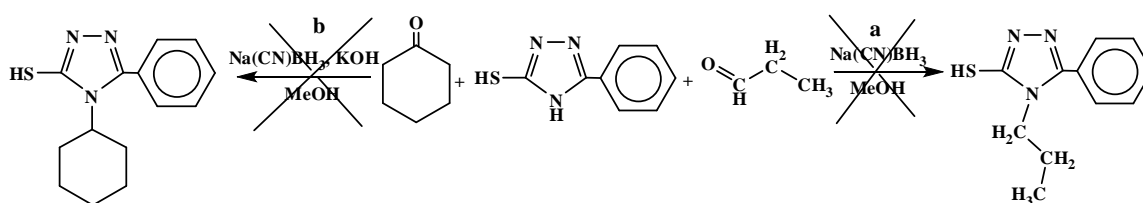
este îndepărtat la presiune scăzută și amestecul de reacție este supus separării pe coloană (Tol:AcOEt = 4:1).

Controlul separării prin CSS indică și de această dată că produsul acilat se descompune în timpul trecerii prin coloană, probabil datorită urmelor de apă din silicagelul folosit ca fază staționară. Am concluzionat că și produsul benzoilat funcționează ca bun agent de acilare pentru nucleofili precum alcoolii sau apa.

Varianta de blocare a azotului ciclului triazolic prin acilare a fost astfel abandonată.

## B. Încercări de alchilare prin reacția de aminare reductivă a ciclului triazolic

Pornind de la indicațiile bibliografice [51], cu privire la posibilitatea alchilării pirazolilor și pirazolilor prin reacția de aminare reductivă, ne-am propus să studiem posibilitatea aplicării acestora în cazul particular al 3-mercapto-1,2,4-triazolilor-5-substituiți (agliconii S-glicozidelor) ca un preambul al reacției de alchilare a glicozidelor propriu-zise (schema 40).



Schema 40

**Tabelul 11.** Reactivi și cantități calculate pentru reacțiile de alchilare

Reactanți	MM	m(g)	Molix10 <sup>-3</sup>	Echiv.	Vol.(mL)
Ber1	177	0.088	0.5 (a) 0.25 (b)	1	
(a) Aldehydă propionică	58	0.145	2.5	5	0.15
(b) ciclohexanonă	98	0.02	0.2	4	0.05
(a) Na(CN)BH <sub>3</sub>	62.5	0.05	0.8	1.6	
(b) Na(CN)BH <sub>3</sub>	62.5	0.047	0.75	3	
(a, b) MeOH					3
(b) KOH		0.004	0.07		

Protocol:

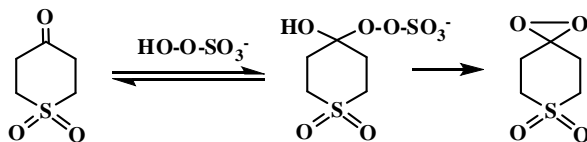
Într-un balon de 25 mL se dizolvă Ber1 (3-mercapto-5-fenil-1,2,4-triazol) în 3 mL metanol (tabelul 11). Sub agitare puternică se adaugă componenta carbonilică la temperatura camerei. Dacă masa de reacție nu este limpede, se adaugă mici cantități de KOH (cazul b, tabelul 11). Pe parcursul a 2 -3 ore se adaugă cianoborohidrua în porții mici. Dacă în urma adăosului de agent reducător masa de reacție devine prea vâscoasă, se adaugă suplimentar 1 – 5 mL de MeOH. Controlul reacției a fost încercat cu următoarele sisteme de eluare: Tol:CHCl<sub>3</sub> = 1:1, Tol:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 1:1, Tol:AcEt = 2:1, Tol:acetonă = 1:1, Tol:AcEt = 1:1.

Indiferent dacă reacția a fost condusă la temperatura ambiantă iar componenta aldehidică a fost schimbată cu o componentă cetonică, sau dacă reacția a decurs la temperaturi de până la 60 °C, nici unul din picurile suplimentare apărute la controlul CSS (developare cu molibdat) nu sting fluorescența (plăci de silicagel F<sub>254</sub>) de unde s-a concluzionat că nu conțin componenta triazolică. Această opțiune a fost abandonată.

### III.4.2. Oxidare cu oxonă

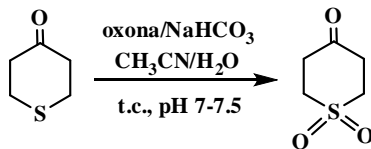
Pornind de la indicațiile din literatură privind utilizarea dioxiranilor generați in situ [52] din oxonă ( $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ ) în obținerea de sulfoxizi și sulfone, precum și de la modul de lucru descris în detaliu de utilizare a aceluiași reactiv în obținerea epoxizilor [53], ne-am propus să studiem posibilitatea obținerii sulfonelor tioglicozidelor cu aglicon de tip mercaptotriazolic.

În cazul utilizării oxonei, se folosește ca agent de oxidare intermediar tetrahidropiran-4-ona (THTP). Aceasta se oxidează pe seama anionului persulfat într-o primă fază la 1,1-dioxo-tetrahidropiran-4-onă, care este catalizatorul efectiv al reacției de oxidare (schema 41).



Schema 41

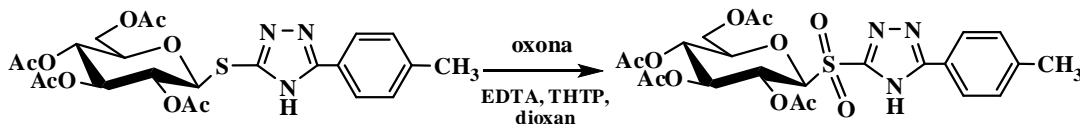
Acesta se oxidează pe seama ionului monopersulfat trecând în dioxiranul corespunzător cetonei, care va fi agentul de oxidare efectiv; cedarea oxigenului reface cetona, care reia rolul de “navetă” al oxigenului din anionul monopersulfat [54, 55] (schema 42).



Schema 42

Din păcate, modul de lucru descris în detaliu în referințele menționate utilizează ca mediu de reacție amestecul acetonitril/apă [56], care în cazul nostru particular nu poate fi utilizat datorită insolubilității substratului (*S*-tioglicozida mercaptotriazolului). Încercările preliminare de utilizare a amestecului acetonitril/apă în diverse proporții s-au soldat cu eșec. Rezultate satisfăcătoare spre bune au apărut în momentul în care s-a optat pentru sistemul dioxan/apă. Această opțiune impune utilizarea unui catalizator de transfer interfazic [57]. Următorii catalizatori de transfer interfazic au fost testați: **(A)** -  $\text{Bu}_4\text{NHSO}_4$  hidrogensulfatul de tetrabutilamoniu (TBASH), **(B)** -  $\text{Bu}_4\text{NBr}$  bromura de tetrabutilamoniu (TBABr), **(C)** -  $\text{Bu}_4\text{PBr}$  bromura de tetrabutilfosfoniu (TBPB) și **(D)** - crown 18. În primele trei cazuri, anionul monopersulfat este deplasat în faza organică de ionul de tetrabutilamoniu. În cel din urmă caz, anionul monopersulfat este transferat fazei organice în calitate de contraion ce însoțește ionul complex  $\text{K}^+$ -crown 18.

După încercări preliminare privind raportul între faza apoasă și cea organică, precum și numărul de echivalenți de agent oxidant folosiți, s-a cristalizat o schemă de lucru ce a fost folosită în toate cazurile **(A)** - **(D)**. Ca substrat a reacției de oxidare a fost folosit Ber2Pag (schema 43).



Schema 43

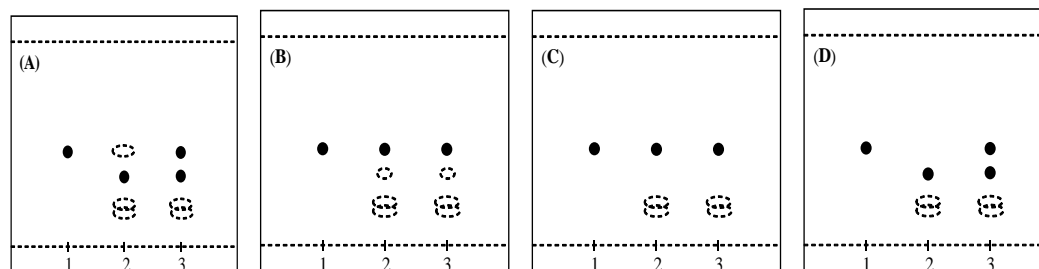


**Tabelul 12.** Calculul cantităților de reactivi pentru oxidarea cu oxonă

Reactivi	MM	m(g)	Molix10 <sup>-3</sup>	Echiv.	Vol.(mL)
Ber2Pag	521	0.11	0.25	1	
Oxona	614.78	0.5	1.8	8	
NaHCO <sub>3</sub>	84	0.5	6	24	
Dioxan					5
EDTA	Soluție 4x10 <sup>-4</sup> M				1
THTP	catalitic	0.005	-	-	-
TBASH	catalitic	(A)			
TBABr	Catalitic	(B)			
TBPB	Catalitic	(C)			
Crown 18	catalitic	(D)			

Protocol:

Într-un balon de 25 mL prevăzut cu agitare magnetică se dizolvă 0.25 mmoli S-tioglicozidă în 5 mL dioxan. Se adaugă o cantitate catalitică de THTP sub agitare, apoi se adaugă 1 mL soluție EDTA și o cantitate catalitică de catalizator de transfer interfazic. Se mărește turația agitatorului la maximum. Oxona și carbonatul de potasiu se mojarază fin și se adaugă în porțiuni la intervale de jumătate de oră (un vârf de spatulă). Avansarea reacției se controlează prin CSS (Tol:AcOEt = 1:1) (Rf material de start = 0.46, Rf sulfonă = 0.34, Rf sulfoxid = 0.15). Reacțiile au fost urmărite pe parcursul a 48 ore, după care, nemaivariind intensitatea fluorescenței, au fost oprite. Controlul CSS în fiecare caz este prezentat în figura 6.



- 1 – tioglicozida material de start  
 2 – reacția de oxidare  
 3 – sumă între materialul de start și reacția de oxidare

**Figura 6.** Controlul CSS al încercărilor de oxidare cu oxonă și diferiți catalizatori de transfer interfazic: (A) – TBASH, (B) – TBABr, (C) – TBPB, (D) – crown 18

Se observă din figura 6 că în cazul folosirii drept catalizator de transfer interfazic a hidrogensulfatului de tetrabutilamoniu (A) apar în reacție spoturi corespunzătoare atât sulfoxizilor cât și sulfonei de interes, dar și urme de material de start, ceea ce înseamnă că acest catalizator nu permite desăvârșirea reacției de oxidare. În cazul (B), al bromurii de tetrabutilamoniu, formarea de sulfoxizi și de sulfonă are loc și mai anevoios, după perioada de urmărire de 48 de ore existând în masa de reacție doar urme de sulfoxizi și de sulfonă, în vreme ce picul corespunzător materialului de start este încă puternic vizibil. Nici utilizarea bromurii de tetrabutilfosfoniu (C) nu aduce îmbunătățiri, de data aceasta în masa de reacție găsindu-se doar picuri corespunzătoare materialului



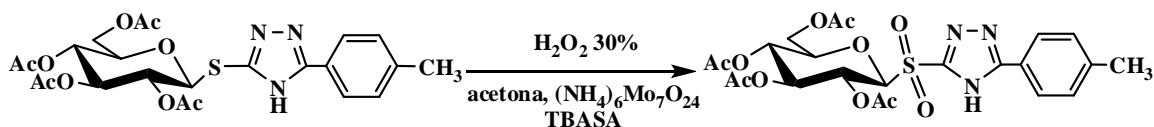
de start și sulfoxizilor, deci oxidarea are loc și mai lent, neputând duce la formarea de sulfonă. Cele mai bune rezultate au fost obținute cu crown 18 (**D**), caz în care din masa de reacție se constată dispariția materialului de start, dar oxidarea nu este completă până la sulfona dorită, în cromatogramă observându-se și picurile corespunzătoare sulfoxizilor. Această metodă nu s-a impus deoarece orice încercare de a atinge transformarea cantitativă și implicit dispariția sulfoxizilor a dat greș.

### III.4.3. Oxidări cu apă oxigenată

#### A. Apă oxigenată și heptamolibdat de amoniu

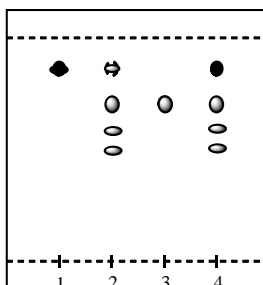
Utilizarea apei oxigenate ca agent de oxidare pentru sulfuri alifaticе și aromatice, datorită conținutului ridicat în oxigen activ, este bine ilustrată în literatură [6 -16]. Din păcate apa oxigenată este un agent de oxidare lent, utilizarea unui catalizator pentru transferul atomului de oxigen este esențială pentru succesul reacției. Recent rezultate notabile în oxidarea sulfurilor la sulfone au fost obținute prin folosirea apei oxigenate în prezența molibdatului de amoniu (drept catalizator) și a lichidelor ionice ca solvenți [7]. Pornind de la receptura dată de autorii menționați, noi am adaptat-o folosind ca solvent organic acetona și un catalizator de transfer interfazic (hidrogensulfatul de tetrabutilamoniu).

Drept compus model s-a încercat oxidarea Ber2Pag, conform schemei 44.



Schema 44

Demn de menționat în acest caz este că desfășurarea reacției depinde în mod hotărâtor de calitatea apei oxigenate folosite precum și de intensitatea agitării masei de reacție. Astfel, în cazul utilizării unei ape oxigenate mai vechi, oxidarea are loc doar parțial, la controlul CSS (Tol:AcOEt = 2:1) (Rf material de start = 0.86, Rf sulfonă = 0.71, Rf sulfoxizi = 0.58, 0.49) (figura 7). Dacă însă se folosește apă oxigenată proaspătă, reacția de oxidare decurge până la sulfonă cu consumarea integrală a materialului de start, dar este foarte lentă, fiind completă doar după 72 ore.



- 1 –material de start
- 2 – reacția după 72 ore
- 3 – reacția după 72 ore cu apă oxigenată proaspătă
- 4 – sumă amestec de reacție+ material de start

**Figura 7.** Controlul CSS al reacției de oxidare cu apă oxigenată și  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$

**Tabelul 13.** Calculul reactanților necesari oxidării cu apă oxigenată și catalizator pe bază de molibden

Reactivi	MM	m(g)	Molix10 <sup>-3</sup>	Echiv.	Vol.(mL)
Ber2Pag	521	0.11	0.25	1	
(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub>		0.6			
acetona					3
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30%)	34	0.06	1.76	10	0.2
TBASH		0.002			

Protocol:

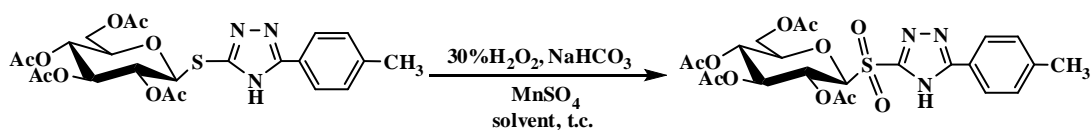
Într-un balon de 25 mL prevăzut cu agitare magnetică se dizolvă 0.25 mmoli S-tioglicozidă în 3 mL acetona. Se adaugă o cantitate catalitică de sare de molibden sub agitare, apoi se adaugă 0.1 mL soluție H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% și o cantitate catalitică de catalizator de transfer interfazic TBASH. Se mărește turația agitatorului la maximum. Controlul CSS (Tol: AcOEt = 2:1) este prezentat în figura 7. După definitivarea reacției (72 ore), amestecul se diluează cu cloroform, se spală repetat cu cantități mici de apă, apoi stratul organic este uscat pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru și se concentrează la sec la presiune scăzută. Sulfona de interes se recrystalizează din MeOH absolut.

Metoda este relativ simplă, prelucrarea masei de reacție este facilă, puritatea produsului final e bună, singurul inconvenient major fiind timpul lung necesar definitivării reacției de oxidare. Această metodă de oxidare nu a putut fi utilizată în prepararea de mari cantități de sulfona și prin urmare nu este recomandabilă la scară preparativă.

## B. Oxidare cu apă oxigenată, activator și catalizator

Așa după cum s-a menționat în paragraful III.1.2, apa oxigenată este un oxidant lent, astfel încât prezența unui activator, mai ales în procesele de oxidare preparative, este obligatorie în legătură cu transformarea sulfurilor în sulfone [13], [58]. Relativ recent utilizarea ionului bicarbonat în postură de activator și a sărurilor de Mn<sup>2+</sup> drept catalizator a fost raportată, relevând rolul ionului de Mn<sup>2+</sup> în descompunerea anionului peroxycarbonat (-HCO<sub>4</sub><sup>-</sup>) [11].

Într-o primă instanță am adaptat protocolul de lucru din literatură, utilizând ca solvenți DMF, acetonitril și cloroform, iar într-o a doua etapă am utilizat solvenți care fac ca prelucrarea masei de reacție și izolarea sulfonei să fie mult mai facilă. Rezultate foarte bune au fost obținute atunci când s-a utilizat acetatul de etil ca solvent, acesta împlinind și dezideratul de a fi un produs biodegradabil, răspunzând astfel exigențelor “Green Chemistry” [59] (tabelul 14). Drept compus model s-a încercat oxidarea Ber2Pag, conform schemei 45 și tabelului 1:



Schema 45

**Tabelul 14.** Calculul reactanților pentru oxidarea cu apă oxigenată și catalizator pe bază de Mn

Reactiv	MM	m(g)	Molix10 <sup>-3</sup>	Echiv.	Vol.(mL)
Ber2Pag	521	0.05	0.1	1	
MnSO <sub>4</sub> xH <sub>2</sub> O		0.002			
Solvent <sup>a</sup>					3
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30%)	34			a	
TBASH		catalitic			
Sol 0.2 M NaHCO <sub>3</sub>					2

<sup>a</sup> – datele experimentelor efectuate sunt prezentate în amănunt în tabelul 15

Protocol:

Într-un balon de 25 mL prevăzut cu un agitator magnetic se solubilizează 1 echivalent tioglicozidă Ber2Pag în 3 mL solvent (conform cu tabelulele 14 și 15). În acest amestec se introduce pulberea de sare de mangan fin mojarată și o soluție alcătuită din apă oxigenată 30% (în cantitățile specificate în tabelul 15) și 2 mL de soluție apoasă 0.2 M de NaHCO<sub>3</sub>. Când controlul CSS indică dispariția materialului de start, reacția se stopează cu o soluție saturată de NaCl (1 mL), apoi se extrage în mod repetat cu acetat de etil. Extractele organice se reunesc și se usucă pe Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidru și se concentrează la presiune scăzută până la sec. În cazurile în care reacția nu e completă, sulfoxizii și sulfona se pot separa din “crud” prin cromatografie flash (Tol:AcOEt = 1:1) pentru determinarea randamentului.

**Tabelul 15.** Date experimentale obținute în încercările de oxidare cu apă oxigenată și catalizator pe bază de Mn, utilizând diverși solvenți

No.	Catalizator interfazic	Eq. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Solvent	Timp (h)	Randament sulfonă (%)
1.*	-	3	DMF	24	52
2.*	-	3	CH <sub>3</sub> CN	24	43
3.*	-	3	CHCl <sub>3</sub>	24	37
7.*	-	3.5	AcOEt	72	42
	1 mg	3.5		72	45
8.*	-	4	AcOEt	36	50
	1 mg	4		36	52
9.**	-	4.5	AcOEt	36	57
	1 mg	4.5		36	59
10.**	-	5	AcOEt	36	61
	1 mg	5		36	63
11.***	-	7	AcOEt	24	88
	1 mg	7		24	90
12.***	-	8	AcOEt	24	85
	1 mg	8		24	89

\* controlul CSS indică urme de material de start, sulfoxizi și sulfonă

\*\* controlul CSS indică dispariția materialului de start, dar încă sunt prezenți sulfoxizii

\*\*\* controlul CSS arată consumarea integrală a materialului de start și existența exclusivă a picului corespunzător sulfonei de interes, iar randamentele au fost evaluate după cristalizarea produsului

Se constată că cele mai bune randamente și timpul cel mai scurt de reacție se obțin în cazul utilizării a 7 echivalenți de apă oxigenată, solventul organic fiind acetatul de etil și că adaosul de catalizator de transfer interfazic nu are o influență prea mare asupra desfășurării reacției. Suplimentarea agentului oxidant nu duce la măriri de randament, probabil și datorită diluării amestecului de reacție.

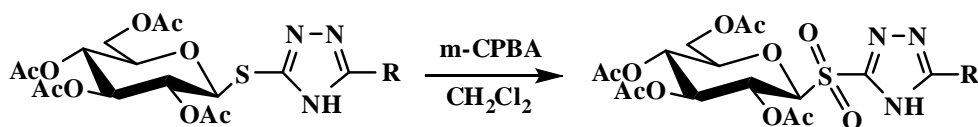
### III.5. OXIDAREA TIOGLICOZIDELOR MERCAPTOTRIAZOLILOR

Toate încercările preliminare de oxidare a tioglicozidelor mercaptotriazolilor menționate până acum s-au desfășurat fie cu timpi de reacție foarte mari, fie cu randamente nesatisfăcătoare, fie cu randamente bune dar cu prelucrări ulterioare ale masei de reacție laborioase. În continuare se prezintă metodele de oxidare care au putut fi folosite la scară preparativă și care au condus la rezultate excelente.

#### III.5.1. Oxidare cu m-CPBA

Oxidarea tioglicozidelor cu acid meta-cloroperoxibenzoic este bine descrisă în literatură [33-37, 60]. Oprirea reacției de oxidare fie la stadiul de sulfoxid, fie la cel de sulfonă depinde de numărul de echivalenți de agent de oxidare folosiți. În cazul tioglicozidelor mercaptotriazolilor 5-substituiți, 8 echivalenți m-CPBA asigură transformarea completă în sulfonă a materialului de start [61, 62].

Schema reacției și procedeul general de oxidare sunt prezentate în schema 46.



Schema 46

**Tabelul 16.** Calculul necesarului de reactivi la oxidarea cu acid meta-cloroperoxibenzoic

Reactivi	MM	m(g)	Moli	Echiv.	Vol.(mL)
BerPag			0.2	1	
m-CPBA 70%	172.5			8	
CHCl <sub>3</sub>					15

Protocol:

Într-un balon de 25 mL prevăzut cu agitator magnetic se dizolvă 0.2 moli BerPag în 15 mL cloroform, apoi sub agitare se adaugă 8 echivalenți m-CPBA sub formă de pulbere (tabelul 16). După 3 ore controlul CSS (Tol:AcOEt = 1:1) indică prezența în masa de reacție a sulfonei de interes, fără însă a mai prezenta urme de material de start sau de sulfoxizi. Amestecul de reacție se diluează cu cloroform și se spală cu o soluție concentrată de tiosulfat de sodiu în scopul consumării excesului de peracid. După separare, stratul cloroformic se spală repetat cu soluție concentrată de carbonat acid de sodiu, în scopul îndepărtării acidului meta-clorobenzoic rezultat ca produs secundar. Apoi, după separare, stratul cloroformic se spală cu apă, se separă, se usucă pe sulfat de sodiu anhidru și se concentrază la presiune scăzută până la sec. Precipitatul amorf obținut este supus în continuare purificării prin recristalizare (uzual MeOH absolut).

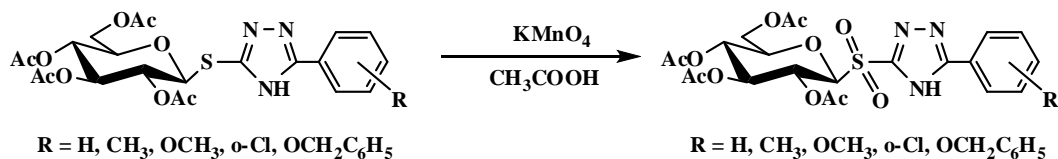
Comentariu: această metodă de oxidare are unele dezavantaje, cum sunt dificultatea îndepărtării produsului secundar de reacție din amestec și solubilitatea relativ scăzută (reactivul se livrează la o concentrație de 70%, restul fiind apă) a agentului de oxidare în cloroform. Ca intermediari ai reacției se formează sulfoxizii diastereoizomeri, dar reacția continuă până la sulfonă în condițiile alese. Coexistența sulfoxizilor și sulfonei la inspecția CSS a amestecului de reacție după consumarea întregii cantități de material de start este un bun indicator al calității acidului m-CPBA utilizat. Acest compus se descompune în timp, chiar dacă este păstrat la temperaturi scăzute. Rezultate bune se obțin dacă acidul disponibil comercial (10 echivalenți) se dizolvă în 10-15 mL cloroform, apoi se spală repetat cu o soluție de 10% carbonat acid de sodiu, pentru a îndepărta acidul

meta-clorobenzoic. Soluția cloroformică ce conține doar peroxidul se spală apoi cu apă, se separă și se usucă pe sulfat de sodiu anhidru, apoi se concentrează la jumătate din volumul inițial. Această soluție se folosește ca atare în reacția de oxidare cu rezultate excelente.

### III.5.2. Oxidare cu $\text{KMnO}_4$ în acid acetic

Oxidarea S-glicozidelor 1,3,4-oxa și respectiv 1,3,4-tiadiazolilor a fost raportată încă din 1977 [31]. Referințe cu privire la oxidarea S-glicozidelor 1,2,4-mercaptotriazolilor 5 substituiți nu sunt prezente în literatură, deoarece aceste glicozide au fost preparate începând cu anul 2002 în cadrul colectivului de carbohidrați din Institutului de Chimie Timișoara [63].

Adaptarea acestui procedeu la tioglicozide de mercaptotriazoli se prezintă în schema 47.



Schema 47

**Tabelul 17.** Calculul reactivilor necesari oxidării cu  $\text{KMnO}_4$  în mediu acid

Reactivi	MM	m(g)	Molix10 <sup>-3</sup>	Echiv.	Vol.(mL)
BerPag			0.2	1	
$\text{KMnO}_4$	158	0.06	0.4	2	
$\text{CH}_3\text{COOH}$	60				4
$\text{H}_2\text{O}$	18				4

Protocol:

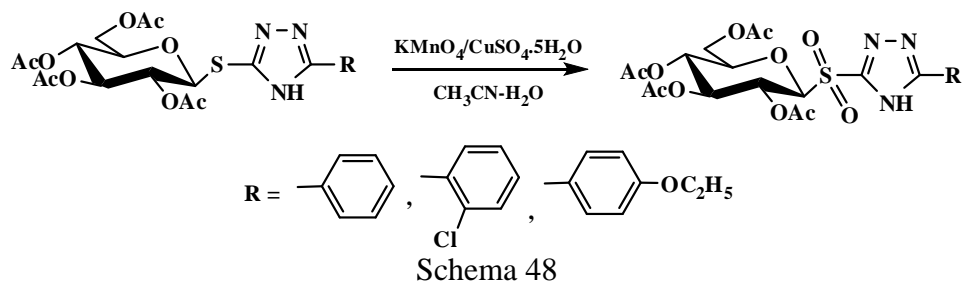
Într-un balon de 50 mL prevăzut cu agitator magnetic se dizolvă sub agitare și la încălzire (40 °C) 0.2 mmoli BerPag în acid acetic glacial (tabelul 17). 0.06 g  $\text{KMnO}_4$  se dizolvă în apă (4 mL) și soluția de oxidant se adaugă în porții de 0.25 mL pe parcursul a 2 ore. Controlul avansării reacției se realizează prin CSS (Tol:AcEt = 1:1) iar după 3 ore reacția este gata. Apoi masa de reacție se toarnă într-un cristalizor cu gheață sfărâmată, amestecând intermitent. Sulfona se izolează ca precipitat prin filtrare. Precipitatul este apoi suspendat în EtOH absolut și se menține la agitare până la dizolvarea completă. Urmele de săruri sunt îndepărtate prin filtrare. Filtratul etanolic este concentrat la presiune scăzută (rotavapor) până la sec când se obține un precipitat alb. Pentru efectuarea de analize, o parte din produs este supus purificării prin cromatografie flash iar produsul obținut este recristalizat din MeOH absolut înainte de a fi inspectat prin <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-RMN.

Comentarii: deși se folosesc reactivi accesibili, condiții blânde de reacție și timpul de reacție este scurt, izolarea produsului din amestecul de reacție scade destul de serios randamentul în substanță pură.

### III.5.3. Oxidare cu $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Recent s-a raportat obținerea de glicozilsulfone folosind un amestec oxidant  $\text{KMnO}_4/\text{CuSO}_4$  (în raport molar 1.5:1), în condiții ce nu afectează grupările protectoare precum acetat, benzil sau benziliden [32]. Modificarea acestei metode pentru S-glicozide de mercaptotriazoli a arătat că, folosind 3 echivalenți de agent oxidant în raport cu tioglicozida, reacția se definitivează în 24 ore [64, 65].

Adaptarea acestui procedeu la tioglicozide de mercaptotriazoli se prezintă în schema 48. Modul de lucru este calculat pentru cazul particular al Ber1Pag, dar au fost încercați și Ber7Pag și Ber14Pag.



**Tabelul 18.** Calculul reactivilor necesari oxidării cu  $\text{KMnO}_4$  în mediu neutru

Reactivi	MM	m(g)	Molix $10^{-3}$	Echiv.	Vol.(mL)
Ber1Pag	507	0.05	0.1	1	
$\text{KMnO}_4$	158	0.474	0.3	3	
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	250	0.5	0.2	2	
$\text{H}_2\text{O}$	18				1.6
$\text{CH}_3\text{CN}$	41				8.4

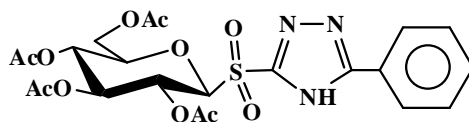
Protocol:

Într-un balon de 25 mL 0.1 mmoli Ber1Pag se dizolvă în 10 mL  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  (6:1 v/v;) sub agitare puternică. Apoi se adaugă aproximativ 1 g amestec de oxidare și se menține sub agitare până când controlul CSS indică dispariția tioglicozidei. Amestecul de reacție este concentrat la presiune scăzută (rotavapor) iar pulberea obținută este repartizată între apă și cloroform. Stratul cloroformic separat este uscat pe sulfat de sodiu anhidru și apoi concentrat la presiune scăzută, obținându-se un compus aproape pur. Produsul este purificat suplimentar prin cromatografie flash și apoi, pentru caracterizările fizice, este recristalizat din MeOH absolut.

Comentariu: Încercarea schimbării agentului de oxidare permanganat cu bicromat de potasiu nu a dus la nici un rezultat. Pentru unele tioglicozide timpul de definitivare a reacției poate fi de până la 72 ore.

### III.6. SULFONE PROTEJATE ALE S-GLICOZIDELOR 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR SINTETIZAȚI

S Ber 1 Pag



Denumire: 2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil -5-fenil-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 87 %

**R<sub>f</sub>** = 0.14 (Tol:AcOEt = 1:1)

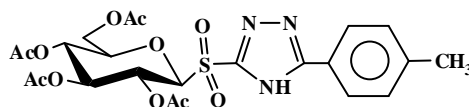
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 248.5, 20114

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 596.86 s, 700.034 s, 1041.37 m, 1107.9 m, 1221.68 f.i., 1250.61 i, 1373.07 m, 1428.03 s, 1552.42 f.s., 1750.08 f.i., 2109.74 f.s., 2965.02 s., 3279.36 s, 3482.91 f.s., 3823.59 f.s.

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 8.32 (m, 2H, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.52 (m, 3H, H<sub>11</sub>, H<sub>12</sub>, H<sub>13</sub>); 5.75 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.6, H<sub>2</sub>); 5.35 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.6, H<sub>3</sub>); 5.06 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.6, H<sub>4</sub>); 4.96 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6, H<sub>1</sub>); 4.12 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.5, J<sub>6a,5</sub>=5.1, H<sub>6a</sub>); 4.07 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.5, J<sub>6b,5</sub>=2.4, H<sub>6b</sub>); 3.82 (ddd, J<sub>5,4</sub>=9.6, J<sub>5,6a</sub>=5.1, J<sub>5,6b</sub>=2.4, H<sub>5</sub>); 2.09, 2.02, 2.00, 1.80 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 170.94, 170.26, 169.55, 169.26 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 158.16 (1C, C8); 147.24 (1C, C9); 131.69 (1C, C12); 129.31 (2C, C10, C14); 126.97 (2C, C13, C14); 88.20 (1C, C1); 76.56 (1C, C5); 73.45 (1C, C3); 67.41 (1C, C4); 66.71 (1C, C2); 61.44 (1C, C6); 20.67, 20.57, 20.50, 20.39 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO).

S Ber2 Pag



Denumire: S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-5-(p-tolil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**Randament** = 85 %

**R<sub>f</sub>** = 0.27 (Tol:AcOEt = 1:1)

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 253.5, 19528

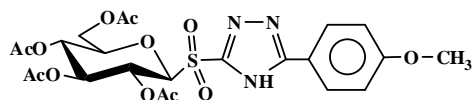
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 595.89 s; 687.49 s; 879.24 s; 1044.26 m; 1119.48 m; 1227.47 fi; 1252.54 fi; 1357.64 i; 1429.96 m; 1501.31 s; 1751.05 fi; 2113.6 fs; 2960.2 s; 3033.48 s; 3110.62 s; 3279.36 s; 3595.63 fs

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.94 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>= J<sub>13,14</sub>=7.5, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.29 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=7.5, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.71 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.6, H<sub>2</sub>); 5.32 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.6, H<sub>3</sub>); 5.04 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.6, H<sub>4</sub>); 4.93 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6, H<sub>1</sub>); 4.24-4.14 (m, 2H, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.79 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 2.40, 2.08, 2.01, 1.99 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.80 (1s, 3H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), 308 °K):** 170.86, 170.16, 169.45, 169.19 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 158.52 (1C, C7 sau C8); 142.10 (1C, C9 sau C12); 134.51 (1C, C12 sau C9); 129.96 (2C, C10, C14); 126.94 (2C, C11, C13); 88.22 (1C, C1); 76.65 (1C, C5); 73.54 (1C, C3); 67.52 (1C, C4); 66.76 (1C, C2); 61.46 (1C, C6); 21.53 (1C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>); 20.64, 20.53, 20.40 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO)



### S Ber 3 Pag



**Denumire:** 2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(para-metoxi-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:2**

**Randament = 80 %**

**P.t. (°C) = 187-189**

**R<sub>f</sub> = 0.37 (Tol:AcOEt = 1:2)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 538.0**

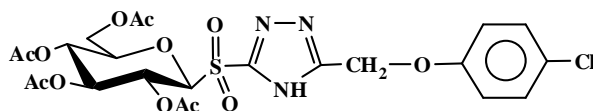
**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) = 266.0, 37656

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 550.66 s, 653.75 s, 841.77 s, 915.05 s, 1047.37 m, 1221.68 i, 1253.35 m, 1374.03 s, 1501.31 s, 1614.13 s, 1752.98 i, 2854.13 s, 2927.41 s, 3278.39 m, 3730.62 f.s.

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), J(Hz), 308 K):** 7.99 (d, 2H, J=8.8 H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.00 (d, 2H, J=8.8, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.69 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.9, H<sub>2</sub>); 5.32 (bm, 1H, H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.9, H<sub>4</sub>); 4.9 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6, H<sub>1</sub>); 4.13 (bm, 2H, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.78 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 2.09, 2.04, 2.01, 1.86 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm)):** lipsă datorită cantității prea mici de probă

### S Ber7 Pag



**Denumire S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(para-cloro-fenoxi-metil) -1,2,4-triazol sulfonă**

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:2**

**Randament = 97 %**

**P.t. (°C) = 152-154**

**R<sub>f</sub> = 0.4 (Tol:AcOEt = 1:2)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 604.5**

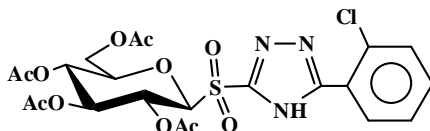
**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) = 227, 15400

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 510.08 s; 721.24 s; 827.31 s; 908.3 s; 1041.37 i; 1056.8 i; 1110.8 i; 1056.8 i; 1110.8 i; 1149.37 m; 1238.08 f.i.; 1355.71 i; 1436.71 m; 1492.83 m; 1752.98 f.i.; 2097.21 s; 2742.28 s; 2959.23 s; 3293.82 s; 3441.35 s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.28 (bs, 2H, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 6.95 (bs, 2H, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.64 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=8.6, H<sub>2</sub>); 5.35 (bs, 3H, H<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>O<sub>Ph</sub>Cl); 5.02 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=8.6, H<sub>4</sub>); 4.86 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=8.6, H<sub>1</sub>); 4.06 (m, 2H, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.75 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 2.06, 2.01, 1.92 (3s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), 308 °K):** 170.74, 170.15, 169.29, 169.18 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 155.97 (1C, C7 sau C8); 155.87 (1C, C8 sau C7); 129.84 (2C, C10, C14); 116.19 (2C, C11, C13); 84.41 (1C, C1); 76.61 (1C, C5); 73.40 (1C, C3); 67.44 (1C, C4); 66.67 (1C, C2); 62.51 (1C, CH<sub>2</sub>O<sub>Ph</sub>Cl); 61.32 (1C, C6); 20.57, 20.52 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO)

## S Ber9 Pag



**Denumire:** (2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(orto-cloro-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:1**

**Randament** = 95 %

**P.t.** (°C) = **198-200**

**R<sub>f</sub>** = 0.30 (Tol:AcOEt = 1:1)

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> *m/z* = 574.50

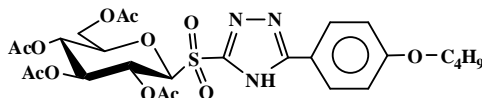
**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) = 268.5; 4300

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 655, 1042, 1154, 1223 f.i., 1253 i, 1334, 1355, 1502, 1614, 1752 f.i.

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 8.35 (bs, 1H, H<sub>13</sub>); 7.45-8.6 (3m, 3H, H<sub>10</sub>, H<sub>11</sub>, H<sub>12</sub>); 5.78 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.0; H<sub>2</sub>); 5.38 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.0; H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.0; H<sub>4</sub>); 4.97 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.0; H<sub>1</sub>); 4.12-4.04 (m, 2H, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>); 3.82 (bs, 1H, H<sub>5</sub>); 2.08, 2.02, 2.00, 1.85 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm)):** 170.47; 170.30; 169.23; 169.19 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 158.90 (1C, C7 sau C8); 154.97 (1C, C8 sau C7); 132.64; 132.18; 131.51; 127.96 (4C, C13-C10); 88.35 (1C, C1); 76.57 (1C, C5); 73.51 (1C, C3); 67.44 (1C, C4); 66.71 (1C, C2); 61.51 (1C, C6); 20.62; 20.59; 20.51; 20.39 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO)

## S Ber 12 Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil- $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(4-butoxi-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:1.5**

**Randament** = 98 %

**P.t.** (°C) = **180-182**

**R<sub>f</sub>** = 0.44 (Tol:AcOEt = 1:2)

**(+)ESI-HCIT-MS:** [M+H]<sup>+</sup> *m/z* = 612.0

**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) = 268, 27608

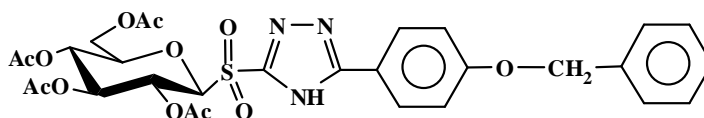
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 589.79 s; 689.17 s; 840.81 s; 1038.45 m; 1124.3 m; 1160.94 m; 1228.43 f.i; 1251.58 f.i; 1357.64 m; 1427.07 s; 1501.31 m; 1748.16 f.i.; 2875.34 s; 2960.2 s; 3045.05 s; 3193.54 s; 3476.06 s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$ (ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.97 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.6, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 6.99 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.6, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.73 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.5, H<sub>2</sub>); 5.33 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.5, H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.5, H<sub>4</sub>); 4.93 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.5, H<sub>1</sub>); 4.12 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.5, J<sub>6a,5</sub>=5.0, H<sub>6a</sub>); 4.06 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.5, J<sub>6b,5</sub>=2.3, H<sub>6b</sub>); 4.02 (t, 2H, J=6.4,  $\alpha$ CH<sub>2</sub> din OBn); 3.8 (ddd, 1H, J<sub>5,4</sub>=9.5, J<sub>5,6a</sub>=5.0, J<sub>5,6b</sub>=2.3, H<sub>5</sub>); 2.08, 2.01, 2.00, 1.82 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.79 (m, 2H,  $\beta$ CH<sub>2</sub> din OBn); 1.52 (dt, 2H,  $\gamma$ CH<sub>2</sub> din OBn); 0.99 (t, 3H, J=7.4, CH<sub>3</sub> din OBn);

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>,  $\delta$ (ppm)):** 178.86, 170.17, 169.46, 169.20 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 158.52 (1C, C7 sau C8); 129.97 (2C, C10, C11); 126.95 (2C, C11, C13); 88.22 (1C, C1); 76.66 (1C, C5); 73.54 (1C, C3); 67.55 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 67.52 (1C, C4); 66.77 (1C, C2); 61.46 (1C, C6);

43.90 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 21.53, 20.64, 20.54, 20.47 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 20.40 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 17.86 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

### S Ber13 Pag



**Denumire:** S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-5-(p-benziloxi-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:1.5**

**Randament = 75 %**

**P.t. (°C) = 178-180**

**R<sub>f</sub> = 0.36 (Tol:AcOEt = 1:1.5)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 646.0**

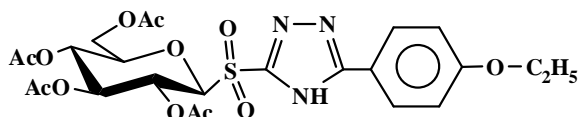
**U.V.(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 267, 28888**

**I.R.(cm<sup>-1</sup>):** 572.07 s; 606.17 s; 746.31 s; 837.91 s; 1037.52 s; 1125.26 s; 1226.5 i; 1250.61 m; 1356.68 s; 1427.07 s; 1501.31 s; 1614.13 s; 1747.19 i; 2964.05 f.s; 3042.16 s; 3201.26 s; 3472.2 s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub> δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** 8.01 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.8, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.37 (m, 5H, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.10 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.8, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.74 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.5, H<sub>2</sub>); 5.33 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.5, H<sub>3</sub>); 5.12 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.5, H<sub>4</sub>); 4.93 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.5, H<sub>1</sub>); 4.12 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=12.6, J<sub>6a,5</sub>=5.0, H<sub>6a</sub>); 4.17 (dd, 1H, H<sub>6b,6a</sub>=12.6, H<sub>6b,5</sub>=2.3, H<sub>6b</sub>); 3.8 (ddd, 1H, J<sub>5,4</sub>=9.5, J<sub>5,6a</sub>=5.0, J<sub>5,6b</sub>=2.3, H<sub>5</sub>); 2.07, 2.00, 1.80 (3s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO);

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), 300 °K):** 170.87, 170.21, 169.47, 169.21 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 161.44 (1C, C7 sau C8); 136.23, 128.99, 127.53, 126.25, 118.33, 115.59 (9C, C10, C11, C14, C13, o, o, m, m, p din CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 88.23 (1C, C1); 76.59 (1C, C5); 73.53 (1C, C3); 70.20 (1C, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 67.47 (1C, C4); 66.78 (1C, C2); 61.45 (1C, C6); 20.66-20.49 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO)

### S Ber 14 Pag



**Denumire:** 2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-5-(para-etoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:1**

**Randament = 66 %**

**P.t. (°C) = 192-194**

**R<sub>f</sub> = 0.23 (Tol:AcOEt = 1:1)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 584.0**

**U.V.(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 269.0; 16600**

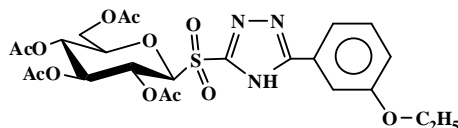
**I.R.(cm<sup>-1</sup>):** 549.61 s, 571.1 s, 837.91 s, 916.02 s, 1043.3 m, 1122.37 m, 1221.68 f.i., 1256.68 f.i., 1356.68 m, 1428.03 s, 1502.28 m, 1614.13 m, 1751.05 f.i., 2952.48 s, 2985.27 s, 3206.08 s, 3480.88 s, 3742.19 f.s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm), J(Hz)):** 7.98 (d, 2H, J=8.6 H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 6.98 (d, 2H, J=8.6, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.93 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.6, H<sub>2</sub>); 5.33 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.6, H<sub>3</sub>); 5.05 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.6,

H<sub>4</sub>); 4.96 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6, H<sub>1</sub>); 4.14 - 4.03 (m, 4H, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.82 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 2.07, 2.02, 2.00, 1.80 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.44 (t, 3H, J=7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ(ppm)):** 170.82, 170.24, 169.47, 169.29 (4C, 4xCH<sub>3</sub>C=O); 161.67 (1C, C7); 157.96 (1C, C8); 128.69 (2C, C10, C14); 117.71(1C, C12); 115.11 (2C, C11, C13); 88.08 (1C, C1); 76.48 (1C, C5); 73.47 (1C, C3); 67.88 (1C, C4); 66.67 (1C, C2); 63.77 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 61.41 (1C, C6); 20.65, 20.57, 20.51, 20.32 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 14.68 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

### S Ber15 Pag



### Denumire: S-(2',3',4',6'-tetra-O-acetil-β-D-glucopiranozil)-5 (meta-etoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) Tol:AcOEt = 1:2**

**Randament = 60 %**

**P.t. (°C) = 188-190**

**R<sub>f</sub> = 0.47 (Tol:AcOEt = 1:2)**

**(+)ESI-HCIT-MS: [M+H]<sup>+</sup> m/z = 584.0**

**U.V.(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 269.0; 16600**

**I.R.(cm<sup>-1</sup>):** 597.85 s; 1041.37 m; 1119.48 m; 1221.68 f.i.; 1246.75 f.i.; 1354.75 m; 1749.12 f.i.; 2942.84 s; 3418.21 s; 3569.59 s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.60 (m, 2H, H<sub>10</sub>, H<sub>12</sub>); 7.39 (t, 1H, J=8.0, H<sub>11</sub>); 7.05 (d, 1H, H<sub>14</sub>); 5.73 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.6, H<sub>2</sub>); 5.33 (dd, 1H, J<sub>3,1</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.6, H<sub>3</sub>); 5.06 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.6, H<sub>4</sub>); 4.95 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.6, H<sub>1</sub>); 4.10 (m, 4H, H<sub>6a</sub>, H<sub>6b</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.81 (ddd, 1H, H<sub>5,6a</sub>=4.6, H<sub>5,6b</sub>=2.7, J<sub>5,4</sub>=9.6, H<sub>5</sub>); 2.08, 2.01, 2.00, 1.82 (4s, 12H, 4xCH<sub>3</sub>CO); 1.435 (t, 3H, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (100MHz, C<sub>6</sub>D<sub>6</sub>, δ(ppm), 308 °K):** 170.83, 170.20, 169.45, 169.22 (4C, 4xCH<sub>3</sub>C=O); 159.66 (1C, C7 sau C8); 130.40 (1C, C10); 119.00 (1C, C11); 118.46 (1C, C12); 112.66 (1C, C14); 88.26 (1C, C1); 76.65 (1C, C5); 73.55 (1C, C3); 67.52 (1C, C4); 66.79 (1C, C2); 63.95 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 61.46 (1C, C6); 20.63, 20.53, 20.47, 20.38 (4C, 4xCH<sub>3</sub>CO); 14.73 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

### III.6.1. Argumente privind structura compușilor sintetizați

#### A. Argumentarea structurii sulfonelor protejate prin spectroscopie IR

Din analiza spectrelor IR ale sulfonelor protejate sintetizate (tabelul 19) se poate concluziona că întreaga serie prezintă anumite caracteristici comune, care scot în evidență prezența legăturilor O=S=O, confirmând astfel succesul reacției de oxidare completă a S-glicozidelor mercaptotriazolilor substituiți. Astfel vibrația simetrică a acestor legături este cuprinsă între 1110 – 1222  $\text{cm}^{-1}$  iar cea asimetrică se regăsește între 1350 -1357  $\text{cm}^{-1}$  [66].

În fiecare caz se confirmă prezența ciclului triazolic în moleculă, prin benzi cuprinse în intervalele 1200 – 1253  $\text{cm}^{-1}$ , 1490 - 1500  $\text{cm}^{-1}$  (unde banda corespunzătoare ciclului triazolic se suprapune cu cea a ciclului aromatic, deci benzile sunt mai intense) [67]. În unele cazuri (SBer7Pag, SBer15Pag, SBer12Pag, SBer13Pag ) se observă și banda de la 1037 – 1043  $\text{cm}^{-1}$  caracteristică inelului triazolic [68]. Toate sulfonele protejate ce conțin în moleculă un ciclu aromatic prezintă benzi caracteristice acestuia în intervalele 1490 - 1552  $\text{cm}^{-1}$  (unde se suprapun cu cele datorate ciclului triazolic) și cele cuprinse în intervalul 3000 -3100  $\text{cm}^{-1}$ , cu variațiuni datorate poziției și gradului de substituție a ciclului aromatic. O altă caracteristică generală a sulfonelor protejate este banda de absorbție bine conturată, de intensitate mare, datorată vibrației legăturii C=O caracteristică grupărilor protectoare acetat, cuprinsă între 1748 -1753  $\text{cm}^{-1}$  [66].

Vibrațiile legăturii C-S nu se pot discerne cu precizie în nici una din clasele de compuși, fiind de intensitate foarte slabă.

**Tabelul 19.** Caracteristici comune în spectrele IR ale sulfonelor protejate sintetizate

Produs	$\nu_{\text{triazol}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{inel aromatic}} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{SO}_2(\text{s})} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{SO}_2(\text{a})} (\text{cm}^{-1})$	$\nu_{\text{C=O(acetil)}} (\text{cm}^{-1})$
SBer1Pag	1221 f.i	1552 s	1107 m	1350 m	1750 f.i
SBer2Pag	1253 i	1501 s	1222 i	1374 s	1752 f.i
SBer3Pag	1253 m	1501 m	1222 i	1374 m	1753 f.i
SBer7Pag	1238 f.i	1493 m p-Cl	1111 i	1356 i	1753 f.i
SBer9Pag	1222 f.i	1502 o-Cl	1154 m	1334-1354 m	1752 f.i
SBer12Pag	1228 i	1501 m	1124 – 1161 m	1357 m	1748 f.i
SBer13Pag	1226 i	1501 m	1125 s-m	1357 m	1747 f.i
SBer14Pag	1221 f.i	1502 m	1122 m	1357 m	1751 f.i
SBer15Pag	1221 f.i	1489 s	1119 m	1355 m	1749 f.i

#### B. Argumentarea structurii sulfonelor protejate prin spectroscopie UV

Din analizarea spectrelor UV ale sulfonelor se constată că în cazul în care radicalul fenil al agliconului are un substituent de tip alchil, o-alchil sau halogen, absorbțiile se deplasează spre lungimi de undă mai mici (tabelul 20). Valorile mari, de ordinul  $10^4$  ale coeficientului de extincție arată că absorbțiile corespund unor tranziții permise foarte probabile.

Benzile de absorbție în UV fiind situate la 250 - 260 nm, sunt caracteristice moleculelor cu duble legături, tranzițiilor de tip  $\pi - \pi^*$ ,  $n - \sigma$  și  $n - \pi^*$ , datorate prezenței ciclurilor heteroatomice cu electroni neparticipanți.

**Tabelul 20.** Caracteristici UV ale sulfonelor protejate sintetizate

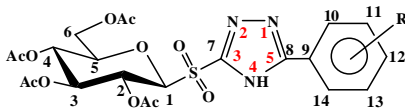
Aglicon	S-BerPag	
	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$
<b>1</b>	248.5	20114
<b>2</b>	253.5	19528
<b>3</b>	266.0	37656
<b>7</b>	227.0	15400
<b>9</b>	268.5	4300
<b>12</b>	268	27608
<b>13</b>	267	28888
<b>14</b>	269.0	16600
<b>15</b>	269.0	16600

### C. Argumentarea sturcturii sulfonelor obținute prin spectroscopie RMN

a. *Configurația centrului anomic* – Reacția de oxidare completă a atomului de sulf din poziția anomică a restului glucozidic peracetilat nu a influențat geometria centrului anomic. Aceasta afirmație este confirmată prin valorile constantelor de cuplaj  $^3J_{1,2}$  ale celor 9 sulfone sintetizate, care se plasează în intervalul 8.6 – 9.6 Hz. Aceste valori ridicate indică o relație  $H_{1ax}-H_{2ax}$  pentru toți compușii. Prin urmare toate sulfonele sintetizate sub forma lor protejată sunt  $\beta$ -S-glicozide.

b. *Conformația ciclului piranozic* - Conformația ciclului piranozic în toate sulfonele protejate sintetizate este  $^4C_1$ , fapt atestat de constantele de cuplaj  $^3J$  între  $H_2$ ,  $H_3$ ,  $H_4$  și  $H_5$ , care au toate valori cuprinse în intervalul 8.6 – 9.6 Hz (vezi descrierea completă a spectrelor RMN la fiecare compus).

c. *Deplasări caracteristice în seria sulfonelor peracetilate* –  $H_1$  din poziția anomică este ușor de atribuit deoarece în toate spectrele  $^1H$ -RMN ale seriei S-BerPag se prezintă sub formă de dublet cu constantă de cuplaj mare în intervalul 4.86 – 4.96 ppm. Deplasările chimice ale protonilor  $H_2 - H_4$  se plasează în intervalul 5.02 – 5.93 ppm, pentru întreaga serie S-BerPag, identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY.  $H_5$  se prezintă sub formă de dublet de dublet de dubleți sau de multiplet, având deplasarea chimică cuprinsă în domeniul 3.75 – 3.82 ppm. Protonii grupării hidroximetil de la C6 (**figura 8**) sunt notați arbitrar  $H_a$  și  $H_b$ , identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY, fiecare dintre ei prezentând două constante de cuplaj.



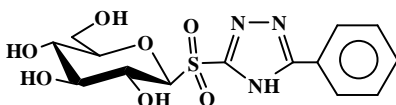
**Figura 8.** Numerotarea atomilor de carbon în scopul interpretării spectrelor RMN

Deplasarea chimică a protonului  $H_{6b}$  se află cuprinsă în intervalul 4.06 – 4.17 ppm. Protonii corespunzători nucleului aromatic din toate sulfonele analizate se plasează toți în intervalul 6.95 – 8.1 ppm. Toți protonii grupărilor protectoare acetat se plasează între 1.80 – 2.40 ppm. Atribuirea identității atomilor de carbon în spectrul  $^{13}C$ -RMN s-a stabilit în urma efectuării experimentelor HETCOR, HMQC, HMBC și APT. În cele mai multe cazuri detectarea atomilor C7 și C8 în spectrul  $^{13}C$ -RMN a eșuat, fie din cauza cantității prea mici de probă supusă analizei, fie din cauza timpului insuficient de achiziție (analiză mai scumpă).

### III.7. SULFONE DEPROTEJATE ALE GLICOZIDELOR S-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR SINTETIZAȚI

Toate sulfonele obținute din tioglicozidele mercaptotriazolilor au fost deprotejate după aceeași metodă descrisă în partea experimentală a capitolului II, paragraful II.2.3. S-a ales același procedeu Zemplen, introducerea de sodiu metallic în soluția metanolică a compusului de interes, datorită randamentului cantitativ obținut și manipulării facile ulterioare a masei de reacție.

#### S Ber1 Glu



**Denumire:** S- $\beta$ -D-glucopiranozil-5-fenil-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) AcOEt: MeOH = 8.5:1.5**

**Randament = 95%**

**P.t. (°C) = 210-214**

**R<sub>f</sub> = 0.35 (AcOEt:MeOH = 8:2)**

**(-)ESI-HCT-MS: m/z = 370.0 [M-H]**

**(+)ESI-HCIT-MS: m/z = 372.0 [M+H]<sup>+</sup>, m/z = 394.0 [M+Na]<sup>+</sup>**

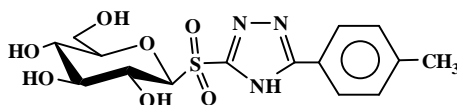
**U.V. ( $\lambda_{\max}$ (nm),  $\epsilon_{\max}$ , MeOH) = 247.0, 10514**

**I.R. (cm<sup>-1</sup>): 590 f.s., 695 f.s., 825 s, 1051 s, 1142 s, 1318 s, 1555 s, 1568 s, 2873 s, 3591 m**

**<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** lipsă

**<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm)):** lipsă

#### S Ber2 Glu



**Denumire:** S- $\beta$ -D-glucopiranozil-5-p-tolil-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>) AcOEt:MeOH = 9:1**

**Randament = 98 %**

**P.t. (°C) = 156-158**

**R<sub>f</sub> = 0.45 (AcOEt:MeOH = 8:2)**

**(-)ESI-HCT-MS: m/z = 384.0 [M-H]**

**(+)ESI-HCIT-MS: m/z = 386.0 [M+H]<sup>+</sup>, m/z = 408.0 [M+Na]**

**U.V. ( $\lambda_{\max}$ (nm),  $\epsilon_{\max}$ , MeOH) = 253.5; 14544**

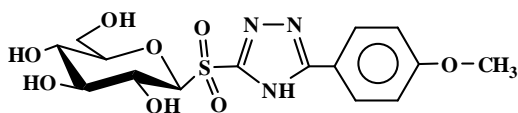
**I.R. (cm<sup>-1</sup>): 548.64 m; 590.11 s; 659.57 m; 751.13 s; 828.27 s; 1099.23 m; 1144.55 m; 1313.29 m; 1431.89 m; 1563.02 m; 1719.23 s; 1918.9 f.s.; 2863.77 m; 2920.66 m; 3288.04 m**

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), J(Hz)):** 7.92 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.11, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.33 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.11, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 4.63 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.1, H<sub>1</sub>); 3.87 (s, 1H, NH); 3.60 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.1, H<sub>2</sub>); 3.54-3.59 (m, 1H, H<sub>6a</sub>); 3.39 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12.1, J<sub>6b,5</sub>=5.2, H<sub>6b</sub>); 3.3 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.1, H<sub>3</sub>); 3.23-3.29 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 3.10 (dd, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.1, H<sub>4</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm)):** 129.40 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 126.02 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 91.41 (1C, C<sub>1</sub>); 81.47 (1C, ?); 77.20 (1C, ?); 69.76 (1C, ?); 60.44 (1C, C<sub>6</sub>); 20.87 (1C, CH<sub>3</sub>).



## S Ber3Glu



### Denumire: S-(β-D-glucopiranozil)-5 –(p-metoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (spumă albă, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>)** AcOEt:MeOH = 2:1

**Randament** = 96 %

**P.t.** (°C) = **118-120**

**R<sub>f</sub>** = 0.65 (AcOEt:MeOH = 1:1)

**(-)ESI-HCT-MS:** *m/z* = 400.0 [M-H]

**(+)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 402.0 [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* = 424.0 [M+Na]

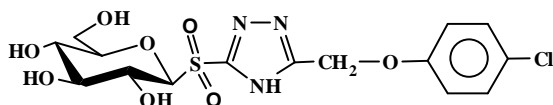
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 253.5, 14544

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 532.25 s; 656.64 s; 835.99 s; 1024.98 s; 1104.05 s; 1254.47 s; 1337.39 s; 1431.89 s; 1507.1 s; 1615.09 s; 2855.1 s; 2924.52 m; 3287.07 s; 3728.69 fs

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.97 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=8.98, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.12 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=8.98, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 4.68 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.57, H<sub>1</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.65 (dd, 1H, J<sub>2,3</sub>=8.98, J<sub>1,2</sub>=9.57, H<sub>2</sub>); 3.55 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=1.9, H<sub>6a</sub>); 3.38 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=12, J<sub>6b,5</sub>=5.6, H<sub>6b</sub>); 3.30 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=8.8, H<sub>3</sub>); 3.26 (ddd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=1.9, J<sub>5,6b</sub>=5.6, J<sub>5,4</sub>=9.3, H<sub>5</sub>); 3.11 (dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=8.98, J<sub>4,3</sub>=9.17, H<sub>4</sub>);

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), 308 °K):** 161.26 (1C, C<sub>12</sub>); 158.36 (1C, C<sub>7</sub> sau C<sub>8</sub>); 128.15 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 114.58 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 91.07 (1C, C<sub>1</sub>); 81.64 (1C, C<sub>5</sub>); 77.46 (1C, C<sub>3</sub>); 69.52 (1C, C<sub>2</sub>); 69.12 (1C, C<sub>4</sub>); 60.50 (1C, C<sub>6</sub>); 55.37 (1C, OCH<sub>3</sub>)

## S Ber7Glu



### Denumire: S-β-D-glucopiranozil5–(4-cloro-fenoximetil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>)** AcOEt:MeOH = 2:1

**Randament** = 97 %

**P.t.** (°C) = **119-121**

**R<sub>f</sub>** = 0.38 (AcOEt:MeOH = 2:1)

**(-)ESI-HCT-MS:** *m/z* = 434.4 [M-H]

**(+)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 436.5 [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* = 458.5 [M+Na]

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm), ε<sub>max</sub>, MeOH) = 228, 10144

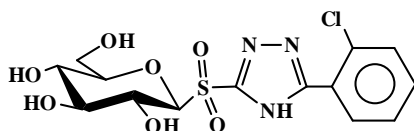
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 647 s, 827 s, 1054 s, 1102 s, 1243 s, 1319 s, 1491 s-m, 2937 s, 3400 m-i

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.37 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>13,14</sub>=9.0, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.09 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=9.0, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 5.31 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>O-); 4.65 (d, 1H, J<sub>4,2</sub>=9.2, H<sub>1</sub>); 3.62 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.2, H<sub>2</sub>); 3.48 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.96, J<sub>6a,5</sub>=2.03, H<sub>6a</sub>); 3.37 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.96, J<sub>6b,5</sub>=5.24, H<sub>6b</sub>); 3.29 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.2, H<sub>3</sub>); 3.21 (ddd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=2.03, J<sub>5,6b</sub>=5.24, J<sub>5,4</sub>=9.2, H<sub>5</sub>); 3.10 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.2, H<sub>4</sub>);

**<sup>13</sup>C-RMN (100MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), 308 °K):** 171.83 (1C, C<sub>9</sub>); 158.18 (1C, C<sub>7</sub> sau C<sub>8</sub>); 156.32 (1C, C<sub>8</sub> sau C<sub>7</sub>); 129.27 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 116.66 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 91.10 (1C, C<sub>1</sub>); 81.60 (1C, C<sub>5</sub>); 77.43 (1C, C<sub>3</sub>); 69.41 (1C, C<sub>2</sub>); 69.01 (1C, C<sub>4</sub>); 62.83 (1C, OCH<sub>2</sub>); 60.36 (1C, C<sub>6</sub>).



## S Ber9Glu



### Denumire: S-β-D-glucopiranozil-5-(orto-cloro-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (cristale albe MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>):** AcOEt:MeOH = 4:1;

**Randament** = 85%;

**P.t.**(°C) = 118-120

**R<sub>f</sub>** = 0.10 (Tol:AcOEt = 1:1);

**(-)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 404.5 [M-H]<sup>-</sup>

**(+)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 406.5 [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* = 428.5 [M+Na]<sup>+</sup>

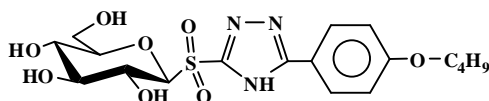
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH) = 221.0; 11400

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 743 s, 1034 s, 1125 s, 1269 s, 1401 s, 1459 s, 1641 s, 2704 s, 2762 s, 2925 s, 3410 m

**<sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), J(Hz); T=363°K):** 7.78 (d, 1H, H<sub>13</sub>); 7.66-7.43 (m, 3H, H<sub>10</sub>-H<sub>12</sub>); 4.68 (m, 3H, J<sub>1,2</sub>=9.3; H<sub>1</sub>); 3.73(d, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>= 9.3; H<sub>2</sub>); 3.58 (dd, 1H, J<sub>6a,5</sub>=2.4; J<sub>6a,6b</sub>=11.6; H<sub>6a</sub>); 3.42 (dd, 1H, J<sub>6b,5</sub>=2.4; J<sub>6b,6a</sub>=11.6; H<sub>6b</sub>); 3.36 (dd, 1H, J<sub>3,4</sub>=J<sub>3,2</sub>=9.3; H<sub>3</sub>); 3.28 (dddd,1H,1H, J<sub>5,6a</sub>=2.4, J<sub>5,6b</sub>=5.5, J<sub>5,4</sub>=10.0; H<sub>5</sub>); 3.16 (dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=10.0 J<sub>4,3</sub>= 9.3; H<sub>4</sub>)

**<sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), T=363°K):** 131.41;130.40; 130.36; 127.0 (4C, C10-C13); 91.23 (1C, C1); 81.77 (1C, C5); 77.53 (1C, C3); 69.51 (1C, C4); 69.13 (1C, C2); 61.51 (1C, C6)

## S Ber12 Glu



### Denumire: S-β-D-glucopiranozil-5-(4-butoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (spumă albă, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>)** AcOEt:MeOH = 8.5:1.5

**Randament** = 90%

**P.t.** (°C) = 140-142

**R<sub>f</sub>** = 0.35 (AcOEt: MeOH= 4:1)

**(-)ESI-HCT-MS:** *m/z* = 442.0 [M-H]<sup>-</sup>

**(+)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 444.0 [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* = 466.0 [M+Na]<sup>+</sup>

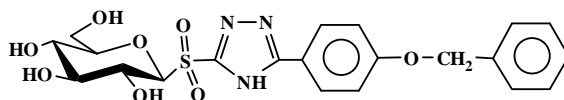
**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH) = 262, 17614

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 541.89 s, 665.32 s, 835.99 s, 1061.62 s, 1106.94 m, 1251.58 m, 1317.14 s, 1434.78 m, 1614.13 s, 2871.49 s, 2933.2 s-m, 2957.3 s, 3392.17 m

**<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** lipsă.

**<sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>, δ(ppm), 308 °K):** lipsă

## S Ber13 Glu



### Denumire: S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(para-benziloxi-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (spumă albă, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>)** AcOEt:MeOH = 8.5:1.5

**Randament** = 98 %

**P.t.** (°C) = **158-160**

**R<sub>f</sub>** = 0.35 :(AcOEt: MeOH=4:1)

**(-)ESI-HCT-MS:**  $m/z$  = 476.0 [M-H]<sup>-</sup>

**(+)ESI-HCIT-MS:**  $m/z$  = 478.0 [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$  = 500.0 [M+Na]<sup>+</sup>

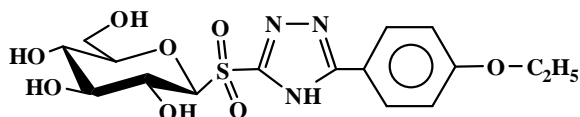
**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) = 263, 25346

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 542.86 s; 647.96 s; 750.17 s; 834.06 s; 1020.16 s; 1105.98 s; 1246.75 s; 1434.78 s; 1616.13 s; 2871.49 s; 3420.14 s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.96 (d, 2H, J<sub>10,11</sub>=J<sub>14,13</sub>=9.0, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 7.50-7.31 (3m, 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 7.20 (d, 2H, J<sub>11,10</sub>=J<sub>14,13</sub>=9.0, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 5.20 (s, 2H, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 4.68 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.1, H<sub>1</sub>); 3.65 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.1, H<sub>2</sub>); 3.55 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=1.9, H<sub>6a</sub>); 3.37 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=5.5, H<sub>6b</sub>); 3.30 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.1, H<sub>3</sub>); 3.25 (ddd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=1.9, J<sub>5,6b</sub>=5.5, J<sub>5,4</sub>=9.1, H<sub>5</sub>); 3.11 (dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=J<sub>4,3</sub>=9.1, H<sub>4</sub>);

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), 308 °K):** 160.30 (1C, C<sub>2</sub>); 136.50 (1C, C<sub>q</sub>); 126.14 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 132.58, 130.55, 128.73, 127.81, 127.35 (5C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 114.98 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 90.95 (1C, C<sub>1</sub>); 81.63 (1C, C<sub>5</sub>); 77.40 (1C, C<sub>3</sub>); 69.47 (1C, C<sub>2</sub>); 69.36 (1C, OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>); 69.04 (1C, C<sub>4</sub>); 60.42 (1C, C<sub>6</sub>).

## S Ber 14 Glu



### Denumire: S- $\beta$ -D-glucopiranozil-5-(para-etoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (spumă albă, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>)** AcOEt:MeOH = 9.5:1

**Randament** = 89 %

**P.t.** (°C) = **140-142**

**R<sub>f</sub>** = 0.45 :(AcOEt:MeOH = 8:2)

**(-)ESI-HCT-MS:**  $m/z$  = 414.0 [M-H]<sup>-</sup>

**(+)ESI-HCIT-MS:**  $m/z$  = 416.0 [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$  = 438.0 [M+Na]<sup>+</sup>,  $m/z$  = 454.0 [M+K]<sup>+</sup>

**U.V.**( $\lambda_{\max}$ (nm), $\epsilon_{\max}$ ,MeOH) 260.5; 32800

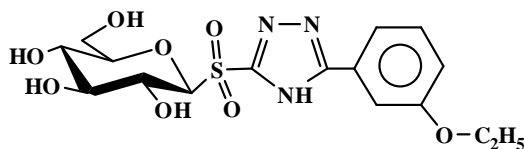
**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 542.86 s; 663.3 s; 1045.23 s; 1110.8 s; 1250.61 s; 1433.82 s; 2878.24 s; 2981.41 s; 3397.96 s

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.95 (d, 2H, J=8.8, H<sub>11</sub>, H<sub>13</sub>); 7.10 (d, 2H, J=8.8, H<sub>10</sub>, H<sub>14</sub>); 4.69 (d, 1H, J=9.0, H<sub>1</sub>); 4.11 (q, 2H, J=7.0, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.65 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.0, H<sub>2</sub>); 3.55 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=2.0, H<sub>6a</sub>); 3.31 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=5.6, H<sub>6b</sub>); 3.28 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.0, H<sub>3</sub>); 3.25 (ddd, 1H, J<sub>5,6a</sub>=2.0, J<sub>5,6b</sub>=5.6, J<sub>5,4</sub>=9.0, H<sub>5</sub>); 3.11 (dd, 1H, J<sub>4,5</sub>=J<sub>4,3</sub>=9.0, H<sub>4</sub>);

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, DMSO-d<sup>6</sup>,  $\delta$ (ppm), 308 °K):** 160.54 (1C, C<sub>7</sub> sau C<sub>8</sub>); 157.91 (1C, C<sub>8</sub> sau C<sub>7</sub>); 132.58 (2C, C<sub>11</sub>, C<sub>13</sub>); 130.55 (1C, C<sub>q</sub>); 128.14 (2C, C<sub>10</sub>, C<sub>14</sub>); 114.98 (1C, C<sub>9</sub>); 91.06 (1C,

C1); 81.63 (1C, C5); 77.46 (1C, C3); 69.52 (1C, C2); 69.13 (1C, C4); 63.36 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 60.51 (1C, C6); 14.51 (1C, OCH<sub>2</sub>C<sub>H</sub><sub>3</sub>)

## Ber15 Glu



### Denumire: S-β-D-glucopiranozil-5-(meta-etoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă

**Aspect:** (spumă albă, MeOH);

**FC(SiO<sub>2</sub>)** AcOEt:MeOH = 9.5:1

**Randament** = 98 %

**P.t.** (°C) = **132-34**

**Rf** = 0.40 (AcOEt:MeOH =8:2)

**(-)ESI-HCT-MS:** *m/z* = 414.0 [M-H]<sup>-</sup>

**(+)ESI-HCIT-MS:** *m/z* = 416.0 [M+H]<sup>+</sup>, *m/z* = 438.0 [M+Na]<sup>+</sup>, *m/z* = 454.0 [M+K]<sup>+</sup>

**U.V.**(λ<sub>max</sub>(nm),ε<sub>max</sub>,MeOH) = 260.5; 32800

**I.R.**(cm<sup>-1</sup>): 541.89 s; 647.0 s; 1046.19 s; 1107.9 s; 1236.15 s; 1331.61 s; 1462.74 s; 2926.45 s; 3393.14 m

**<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), J(Hz), 308 °K):** 7.58, 7.48, 7.1 (3m, 4H, H<sub>10</sub>, H<sub>12</sub>, H<sub>13</sub>, H<sub>14</sub>); 4.71 (d, 1H, J<sub>1,2</sub>=9.1, H<sub>1</sub>); 4.11 (q, 2H, J=6.9, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.66 (dd, 1H, J<sub>2,1</sub>=J<sub>2,3</sub>=9.1, H<sub>2</sub>); 3.56 (dd, 1H, J<sub>6a,6b</sub>=11.9, J<sub>6a,5</sub>=1.9, H<sub>6a</sub>); 3.38 (dd, 1H, J<sub>6b,6a</sub>=11.9, J<sub>6b,5</sub>=5.5, H<sub>6b</sub>); 3.31 (dd, 1H, J<sub>3,2</sub>=J<sub>3,4</sub>=9.1, H<sub>3</sub>); 3.27 (ddd, 1H, J<sub>5,4</sub>=9.1, J<sub>5,6a</sub>=1.9, J<sub>5,6b</sub>=5.5, H<sub>5</sub>); 3.11 (dd, 1H, J<sub>4,3</sub>=J<sub>4,5</sub>=9.1, H<sub>4</sub>); 1.37 (t, 3H, J=6.9, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ(ppm), 308 °K):** 158.91 (1C, C7 sau C8); 130.42 (1C, C10); 118.60, 117.34, 111.98 (3C, C12, C13, C14); 91.12 (1C, C1); 81.66 (1C, C5); 77.46 (1C, C3); 69.52 (1C, C2); 69.14 (1C, C4); 63.34 (1C, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>) 60.51 (1C, C6); 14.48 (1C; OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)

### III.7.1. Argumente privind structura compușilor sintetizați

#### A. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate ale tioglicozidelor sintetizate prin spectroscopie IR

În cazul sulfonelor deprotejate, intensitatea tuturor benzilor de absorbție scade comparativ cu analogii protejați, dar caracteristicile dominante se pot observa și în aceste cazuri (**tabelul 21**). Astfel se pot distinge benzile caracteristice vibrației legăturilor O=S=O, curpinse între 1102 – 1142 cm<sup>-1</sup> pentru vibrația simetrică și 1236 – 1337 cm<sup>-1</sup> pentru vibrația asimetrică. Se poate evidenția prezența în moleculă a ciclului triazolic, datorită benzilor din intervalele: 1025 -1054 cm<sup>-1</sup>, 1220 cm<sup>-1</sup>, 1500 cm<sup>-1</sup> (unde se suprapun și absorbțiile caracteristice ciclului aromatic). Absorbțiile caracteristice inelului aromatic din intervalul 2873 – 2981 cm<sup>-1</sup> sunt deplasate față de cele menționate în literatură (~ 3000 cm<sup>-1</sup>). O altă caracteristică a sulfonelor deprotejate este absența benzii din jurul valorii de 1740 cm<sup>-1</sup> datorată prezenței grupelor protectoare acetat respectiv gruparea C=O, și apariția unei benzi largi, intense, în domeniul 3287 – 3420 cm<sup>-1</sup> datorată vibrației multiplelor legături OH din moleculă [66].

Vibrațiile legăturii C-S nu se pot discerne cu precizie în nici una din clasele de compuși, fiind de intensitate foarte slabă.

**Tabelul 21.** Caracteristici comune în spectrele IR ale sulfonelor deprotejate sintetizate

Produs	Vtriazol (cm <sup>-1</sup> )	Vinel aromatic (cm <sup>-1</sup> )	vSO <sub>2</sub> (s) (cm <sup>-1</sup> )	vSO <sub>2</sub> (a) (cm <sup>-1</sup> )	vo-H (cm <sup>-1</sup> )
--------	------------------------------	------------------------------------	--	--	--------------------------

					<b>bandă largă</b>
SBer1Glu	1260 s	1555 s	1142 s	1318 s	3591
SBer2Glu	1254 m	1507 s	1104 s	1337 m	3288
SBer3Glu	1254 s-m	1507 s	1104 s	1337 s	3287
SBer7Glu	1243 s-m	1491 s p-Cl	1102 s	1319 s	3400
SBer9Glu	1269 s	1488 s o-Cl	1125 s	1461 s	3410
SBer12Glu	1251 m	1435 m	1107 s	1317 s	3392
SBer13Glu	1246 s	1507 s	1106 s	1247 s	3420
SBer14Glu	1250 s	1508 s	1110 s	1250 s	3398
SBer15Glu	1236 s	1482 s	1108 s	1236 s	3393

## B. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate ale tioglicozidelor sintetizate prin spectroscopie UV

Din analiza spectrelor UV ale sulfonelor deprotejate se constată că în cazul în care radicalul fenil al agliconului are un substituent de tip alchil, o-alchil sau halogen (tabelul 22), absorbțiile se deplasează spre lungimi de undă mai mici. Coeficientul de extincție aferent sulfonelor deprotejate este mult mai mic decât cel calculat pentru partenerii protejați. Valorile mari, de ordinul  $10^4$  ale coeficientului de extincție arată că absorbțiile corespund unor tranziții permise foarte probabile.

Benzile de absorbție în UV fiind situate la 250 -260 nm, sunt caracteristice moleculelor cu duble legături, tranzițiilor de tip  $\pi - \pi^*$ ,  $n - \sigma$  și  $n - \pi^*$ , datorate prezenței ciclurilor heteroatomice cu electroni neparticipanți.

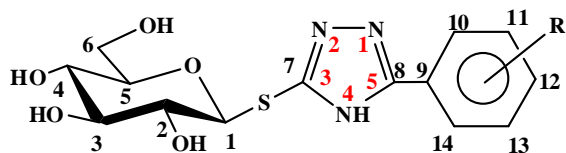
**Tabelul 22.** Caracteristici ale spectrelor UV ale sulfonelor sintetizate

Aglicon	S-BerGlu		S-BerPag	
	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$
<b>1</b>	247.0	10514	248.5	20114
<b>2</b>	253.5	14544	253.5	19528
<b>3</b>	262.5	16358	266.0	37656
<b>7</b>	228	10144	227.0	15400
<b>9</b>	221.0	11400	268.5	4300
<b>12</b>	262	17614	268	27608
<b>13</b>	263	25346	267	28888
<b>14</b>	260.5	32800	269.0	16600
<b>15</b>	260.5	32800	269.0	16600

## C. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate prin spectroscopie RMN

a. *Configurația centrului anomic* – În urma reacției de deprotejare nu s-a observat schimbarea configurației centrului anomic. Constantele de cuplaj  $^3J_{1,2}$  ale celor 9 compuși sintetizați se plasează în intervalul 9 - 9.57 Hz ceea ce indică o relație  $H_{1ax}-H_{2ax}$  pentru toți compușii. Prin urmare toate sulfonele deprotejate sintetizate sunt  $\beta$ -S-glicozide.

b. *Conformația ciclului piranozic* - Conformația ciclului piranozic în toate glicozidele sintetizate este cel mai probabil  $^4C_1$ . Certitudinea este completă deoarece există argumente numerice experimentale clare pentru  $^3J_{1,2}$ ,  $^3J_{2,3}$ ,  $^3J_{3,4}$ ,  $^3J_{4,5}$  toate având valori peste 9Hz.

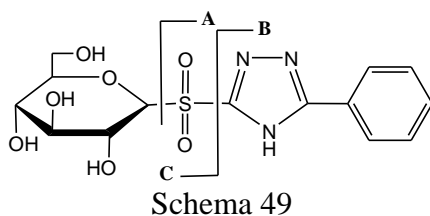


**Figura 9.** Numerotarea atomilor de carbon în interpretarea spectrelor RMN

d. *Deplasări caracteristice în seria sulfonelor deprotejate* – H<sub>1</sub> din poziția anomică este ușor de atribuit deoarece în toate spectrele <sup>1</sup>H-RMN ale seriei S-BerGlu se prezintă sub formă de dublet cu constantă de cuplaj mare în intervalul 4.63 – 4.69 ppm, fiind primul semnal în zona protonilor alifatici. Deplasările chimice ale protonilor H<sub>2</sub> – H<sub>5</sub> se plasează în intervalul 3.21 – 3.65 ppm, pentru întreaga serie BerGlu, identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY. Protonii grupării hidroximetil de la C6 (figura 9) sunt notați arbitrar H<sub>a</sub> și H<sub>b</sub>, identitatea lor stabilindu-se prin experimentul COSY, fiecare dintre ei prezentând două constante de cuplaj. Deplasarea chimică a protonului H<sub>6a</sub> se plasează în intervalul 3.38 - 3.59 iar a protonului H<sub>6b</sub> la 3.31 -3.39 ppm. Protonii corespunzători nucleului aromatic din toate S-glicozidele deprotejate se plasează în intervalul 7.12 – 7.97 ppm. Lipsa celor 4 singleți corespunzători grupărilor metil din gruparea acetat din intervalul 1.92 – 2.2 ppm confirmă deprotejarea totală a sulfonelor peracetilate. Atribuirea identității atomilor de carbon în spectrul <sup>13</sup>C-RMN s-a făcut în urma efectuării experimentelor HETCOR, HMQC, HMBC și APT și este certă doar pentru atomii de carbon C1 - C6 din ciclul piranozic. Punerea în evidență a atomilor C7 și C8 din ciclul triazolic a fost incertă. Deoarece informațiile furnizate de experimentele de RMN în cazul produșilor deprotejați nu au fost la fel de complete ca cele pentru produșii peracetați, s-a impus un studiu suplimentar al structurii derivaților deprotejați prin spectrometrie de masă.

#### D. Argumentarea structurii sulfonelor deprotejate ale tioglicozidelor sintetizate prin spectroscopie de masă

**S-BER1GLU:** S-β-D-glucopiranozil-5-fenil-1,2,4-triazol sulfonă



Structura compusului S-BER1GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 372.0$  și  $m/z = 394.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$  și  $[M+Na]^+$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 370.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

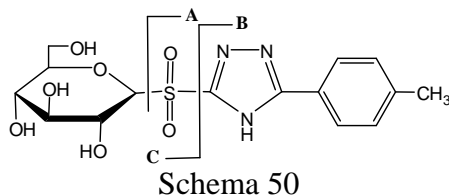
3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 370.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (anexa 11).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 352.0$  corespunde pierderii unei molecule de apă,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 292.9$  corespunde fragmentului  $[M-C_6H_5]$  (schema 49)
- ionul de la  $m/z = 263.0$  corespunde fragmentului  $[M-C_6H_5]$  care pierde o moleculă de formaldehidă  $[M-C_6H_5-CH_2O]$ , scindare specifică alcoolilor primari
- ionul de la  $m/z = 208.0$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 144.0$  corespunde fragmentului B

Ionii de la  $m/z = 308.0, 169.0$  și  $160.0$  nu au fost atribuiți

**S-BER2GLU:** S-β-D-glucopiranozil)-5-p-tolil-1,2,4-triazol sulfonă



Structura compusului S-BER2GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 386.0$  și  $m/z = 408.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$  și  $[M+Na]^+$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

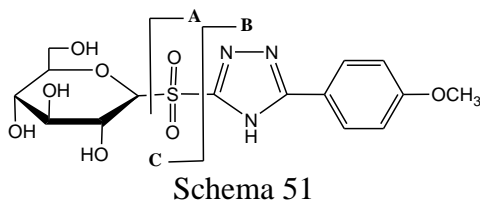
2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 384.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 384.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (**Anexa 12**).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 366.0$  corespunde la pierderea unei molecule de apă din picul molecular,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 222.0$ , corespunde fragmentului A (schema 50)
- ionul de la  $m/z = 173.0$  corespunde fragmentului C care pierde 3 molecule de apă (fragment care conține componenta glucidică) specific glucidelor
- ionul de la  $m/z = 158.0$  corespunde fragmentului B

**S-BER3GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-5-(para-metoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă



Structura compusului S-BER3GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

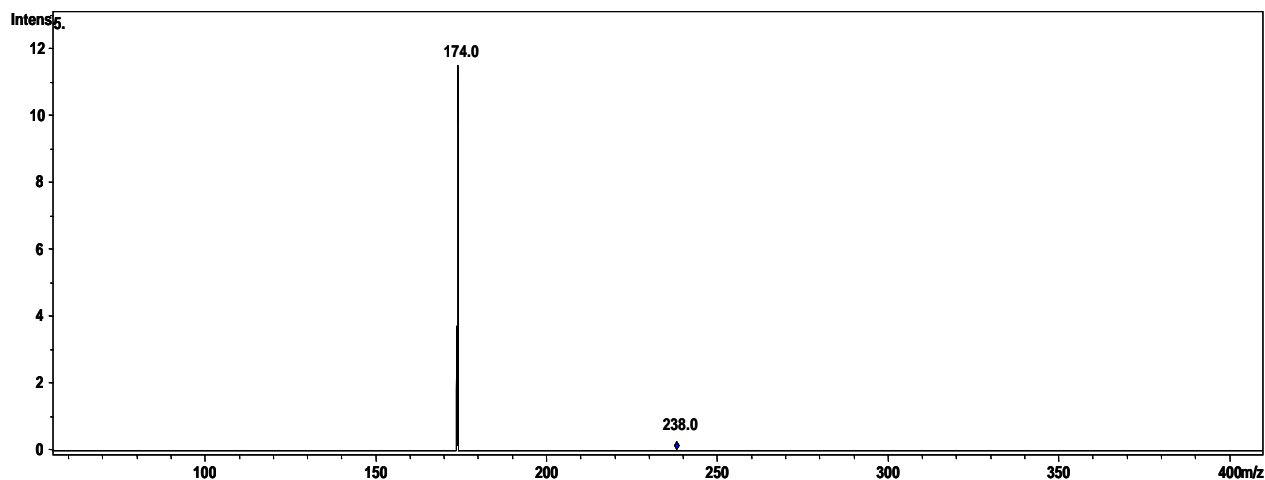
1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 402.0$  și  $m/z = 424.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$  și  $[M+Na]^+$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 400.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular [M-H]<sup>-</sup>.

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 400.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup> (**anexa 13**).

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri (schema 51):

- fragmentul de la  $m/z = 382.0$  corespunde la pierderea unei molecule de apă, [M-H<sub>2</sub>O] specific compușilor glucidici
- fragmentul de la  $m/z = 353.9$  corespunde la pierderea a două molecule de apă [M-2H<sub>2</sub>O] specific compușilor glucidici
- fragmentul de la  $m/z = 238.0$  corespunde fragmentului A
- fragmentul de la  $m/z = 190.0$  corespunde fragmentului C care pierde două molecule de apă [C-2H<sub>2</sub>O], ceea ce este firesc deoarece fragmentul C conține componenta glucidică
- fragmentul de la  $m/z = 174.0$  corespunde fragmentului B
- fragmentul de la  $m/z = 118.0$  neatribuit



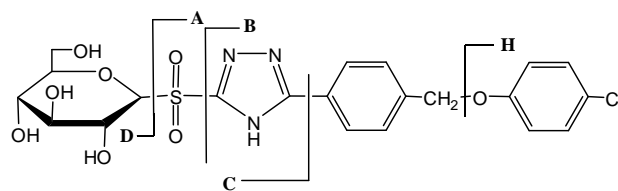
**Figura 10.** Spectrul MS<sup>3</sup> al compusului S-Ber3Glu

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 238$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>3</sup> (figura 10).

6) Analiza spectrului MS<sup>3</sup> constată că fragmentul A pierde o moleculă de SO<sub>2</sub> conducând la fragmentul B, [A-SO<sub>2</sub>]



**S-BER7GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(4-cloro-fenoximetil)-1,2,4-triazol sulfonă



Schema 52

Structura compusului S-BER7GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 436.5$  și  $m/z = 458.5$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$  și  $[M+Na]^+$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

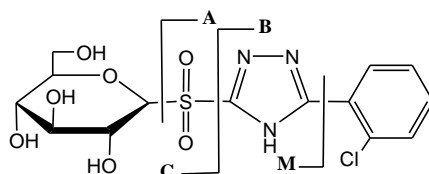
2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 434.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 434.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (anexa 14).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 415.9$  corespunde pierderii unei molecule de apă,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 398.0$  corespunde pierderii unei noi molecule de apă,  $[M-2xH_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 271.8$  corespunde fragmentului A (schema 52)
- ionul de la  $m/z = 223.9$  corespunde pierderii unui atom de oxigen (pierdere menționată în literatură în cazul sulfonelor) și a 3 molecule de apă (deoarece conține agliconul glucidic) din ionul de fragmentare C  $[C-[O]-3xH_2O]$
- ionul de la  $m/z = 207.9$  corespunde fragmentului B sau poate proveni din ionul de fragmentare A care pierde o moleculă de  $SO_2$   $[A-SO_2]$
- ionul de la  $m/z = 127.0$  corespunde fragmentului H
- ionul de la  $m/z = 165.8$  nu a fost atribuit

**S-BER9GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(orto-cloro-fenil)-1,2,4-triazole sulfonă



Schema 53

Structura compusului S-BER9GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 406.5$  și  $m/z = 428.5$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$  și  $[M+Na]^+$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 404.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .



3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 404.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (Anexa 15).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri (schema 53):

- ionul de la  $m/z = 386.0$  corespunde pierderii unei molecule de apă,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 367.9$  corespunde pierderii a două molecule de apă,  $[M-2xH_2O]$  specific compușilor glucidici sau ionilor de fragmentare ce conțin componenta glucidică
- ionul de la  $m/z = 293.9$  corespunde fragmentului M
- ionul de la  $m/z = 242.0$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 194.0$  poate proveni din fragmentul M care pierde pe rând ciclul triazolic, o moleculă de apă și un atom de oxigen  $[M-Trz-O-H_2O]$
- ionul de la  $m/z = 177.9$  corespunde fragmentului B

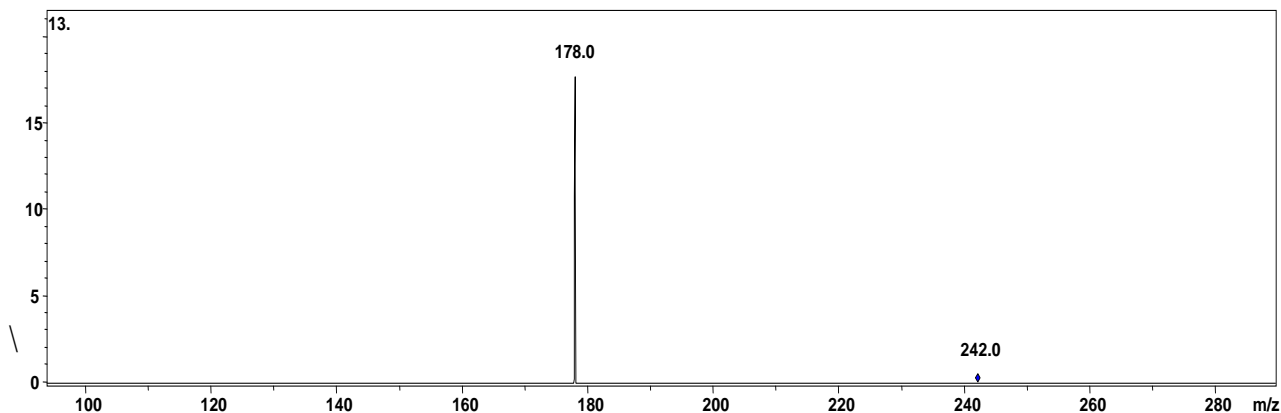
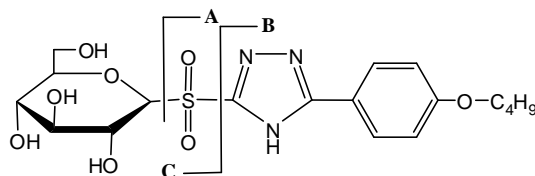


Figura 11. Spectrul  $MS^3$  al compusului S-Ber9Glu

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 242.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$  (Figura 11). Analiza spectrului  $MS^3$  arată că fragmentarea ionului de la  $m/z = 242.0$  conduce la fragmentul B prin pierderea unei molecule de  $SO_2$ ,  $[A-SO_2]$ .

**S-BER12GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(para-butoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă



Schema 54

Structura compusului S-BER12GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 444.0$  și  $m/z = 466.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H^+]^+$  și  $[M+Na^+]^+$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 442.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

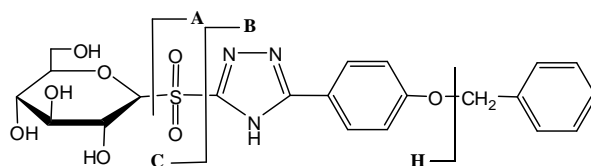
3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 442.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (**anexa 12**).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 424.0$  corespunde pierderii unei molecule de apă din ionul molecular,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 280.0$  corespunde fragmentului A (schema 54)
- ionul de la  $m/z = 216.0$  corespunde fragmentului B

Ionii de la  $m/z = 364.0$ ,  $330.1$  și respectiv  $232.1$  nu au putut fi izolați spre a fi fragmentați mai departe și sunt neatribuiți.

### S-BER13GLU: S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(para-benziloxi-fenil)-1,2,4-triazol sulfonă



Schema 55

Structura compusului S-BER13GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 478.0$  și  $m/z = 500.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]$  și  $[M+Na]$ , respectiv formei protonate și sodiate a ionului molecular.

2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 476.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 476.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (**anexa 17**).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri:

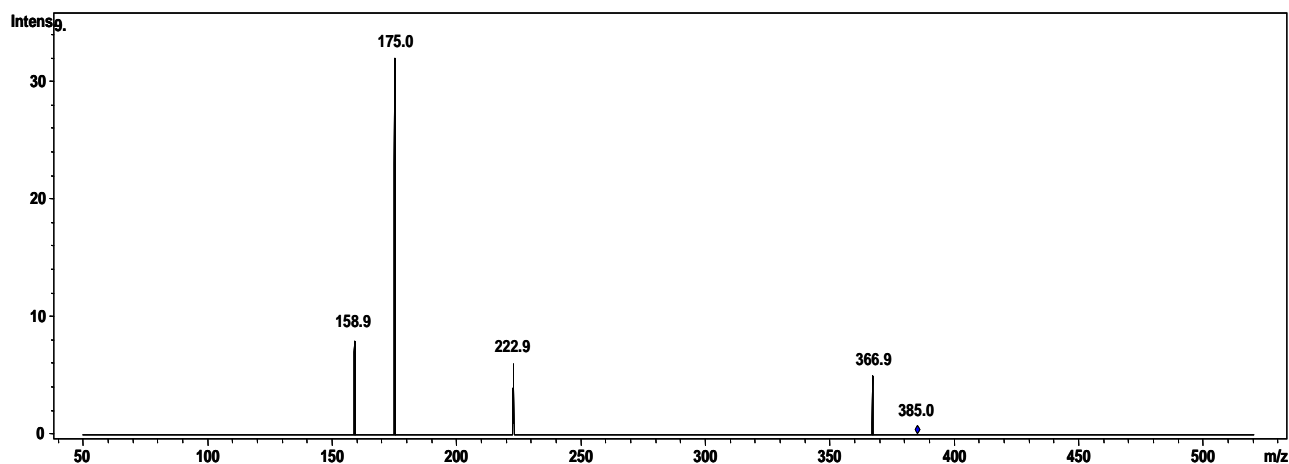
- ionul de la  $m/z = 458.0$  corespunde pierderii unei molecule de apă din ionul molecular,  $[M-H_2O]$  specific compușilor glucidici
- ionul de la  $m/z = 384.9$  corespunde fragmentului H
- ionul de la  $m/z = 366.9$  corespunde pierderii unei molecule de apă din fragmentul H  $[H-H_2O]$
- ionul de la  $m/z = 346.0$  nu a fost atribuit
- ionul de la  $m/z = 313.9$  corespunde fragmentului A (schema 55)
- ionul de la  $m/z = 250.0$  corespunde fragmentului B
- ionul de la  $m/z = 227.1$  corespunde fragmentului C
- ionul de la  $m/z = 175.0$  corespunde pierderii unui atom de oxigen (caracteristic sulfonelor) și a două molecule de apă (justificabilă, deoarece fragmentul conține partea glicozidică) din fragmentul C,  $[C-O-2xH_2O]$
- ionul de la  $m/z = 159.0$  corespunde pierderii de glicozil și dioxid de sulf din fragmentul H,  $[H-C_6H_{11}O_5-SO_2]$

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 385.0$  (fragmentul M) care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$  (**Figura 12**). Analiza spectrului  $MS^3$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 366.9$  corespunde pierderii unei molecule de apă din fragmentul H,  $[H-H_2O]$

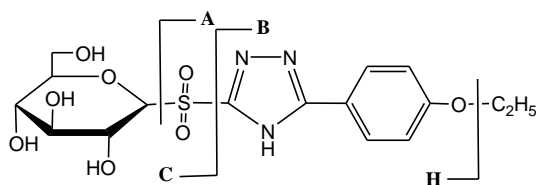
-ionul de la  $m/z = 222.9$  corespunde pierderii restului glucidic din fragmentul H,  $[H-C_6H_{11}O_5]$

-ionul de la  $m/z = 175.0$  corespunde la o fragmentare drastică ce are ca și consecință pierderea inelului aromatic, a inelului heterociclic, a unui atom de oxigen și a două molecule de apă din ionul precursor H,  $[H-(C_6H_4O)-(C_2N_3H)-O-2xH_2O]$



**Figura 12.** Spectrul MS<sup>3</sup> al compusului S-Ber13Glu

**S-BER14GLU:** S-(β-D-glucopiranozil)-5-(para-etoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă



Schema 56

Structura compusului BER14GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 416.0$ ,  $m/z = 438.0$  și respectiv  $m/z = 454.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

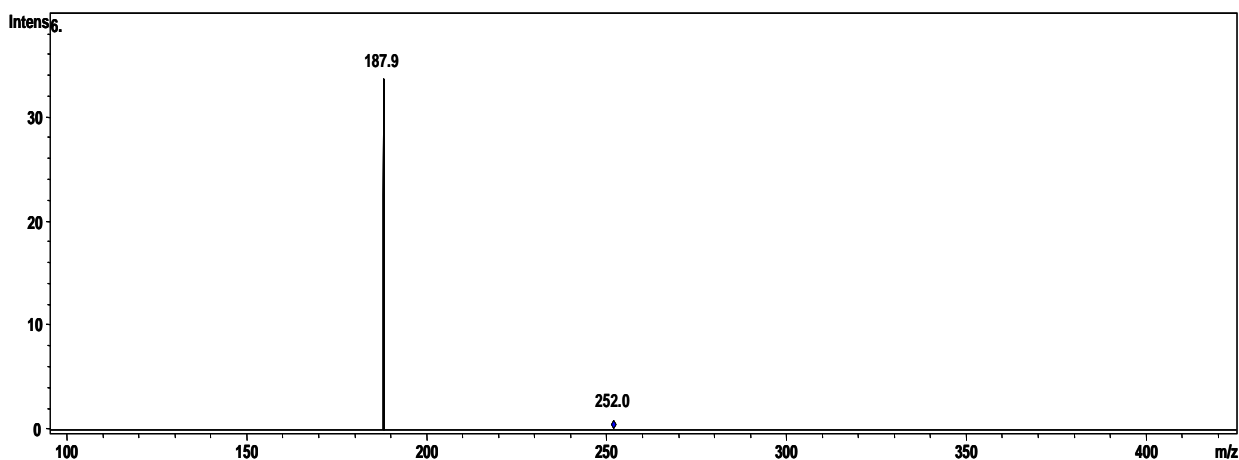
2) În spectrul de masă MS<sup>1</sup> efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 414.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]^-$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 414.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul MS<sup>2</sup>.(ANEXA 18)

4) Analiza spectrului MS<sup>2</sup> conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 396.1$  corespunde pierderii unei molecule de apă din ionul molecular (pierdere caracteristică compușilor glucidici)
- ionul de la  $m/z = 386.1$  corespunde fragmentului H (schema 56)
- ionul de la  $m/z = 251.9$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 203.9$  este neatribuit
- ionul de la  $m/z = 187.9$  corespunde fragmentului B
- ionul de la  $m/z = 174.9$  corespunde pierderii unui atom de oxigen și a două molecule de apă din fragmentul C,  $[C-O-2xH_2O]$

-ionul de la  $m/z = 118.1$  poate rezulta din fragmentul B prin pierderea succesivă a radicalului etil și a fragmentului  $C(=N)NH$ ,  $[C-C_2H_5-(C(=N)NH)]$

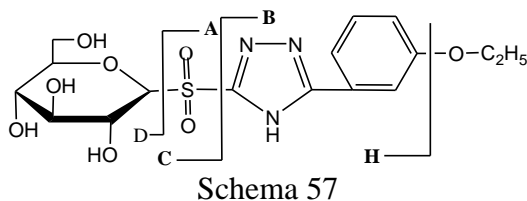


**Figura 13.** Spectrul  $MS^3$  al compusului S-Ber14Glu

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 396.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$  (Figura 12). Analiza spectrului  $MS^3$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 251.9$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 187.9$  corespunde fragmentului B

**S-BER15GLU:** S-( $\beta$ -D-glucopiranozil)-5-(meta-etoxifenil)-1,2,4-triazol sulfonă



Structura compusului BER15GLU a fost confirmată prin spectrometrie de masă după cum urmează:

1) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, sunt prezenți ionii de la  $m/z = 416.0$ ,  $m/z = 438.0$  și respectiv  $m/z = 454.0$  ce corespund ionilor pseudomoleculari  $[M+H]$ ,  $[M+Na]$  și  $[M+K]$ , respectiv formei protonate, sodiate și potasiate a ionului molecular.

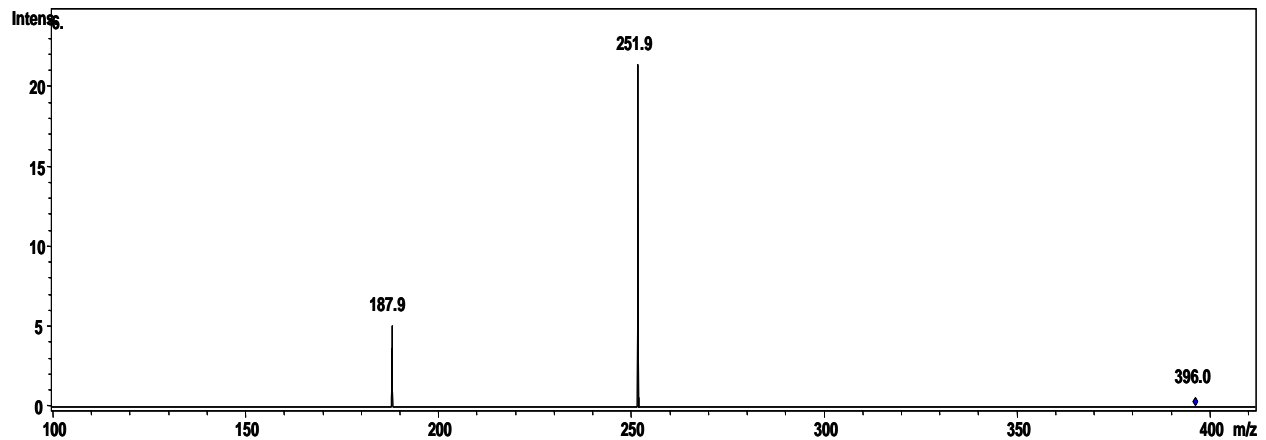
2) În spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, este prezent ionul de la  $m/z = 414.0$  ce corespunde ionului pseudomolecular  $[M-H]$ .

3) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 414.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  (**anexa 19**).

4) Analiza spectrului  $MS^2$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 395.9$  corespunde pierderii unei molecule de apă din ionul pseudomolecular  $[M-H-H_2O]$
- ionul de la  $m/z = 383.1$  corespunde pierderii grupării hidroximetil (scindare  $\alpha$  a alcoolilor) din ionul pseudomolecular  $[M-H-CH_2OH]$
- ionul de la  $m/z = 369.1$  corespunde fragmentului H (schema 57)
- ionul de la  $m/z = 359.1$  nu a fost atribuit

- ionul de la  $m/z = 251.9$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 187.9$  corespunde fragmentului B



**Figura 14.** Spectrul  $MS^3$  al compusului S-Ber15Glu

5) Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului de la  $m/z = 396.0$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$  (Figura 13). Analiza spectrului  $MS^3$  conduce la următoarele atribuiri:

- ionul de la  $m/z = 251.9$  corespunde fragmentului A
- ionul de la  $m/z = 187.9$  corespunde fragmentului B

### III.8. CONCLUZII

S-fenil-tioglicozidele pot fi oxidate, așa după cum s-a arătat în capitolul **III.2**, atât la sulfoxizi cât și la sulfone, cu randamente medii spre foarte bune, funcție de condițiile de reacție alese. Problemele care apar și care fac obiectul atât de multor variante de oxidare sunt legate de integritatea grupelor protectoare, de definitivarea reacției și de obținerea unui singur produs de oxidare. Din acest motiv, s-a ales încercarea mai multor variante de oxidare pe compuși model, cu structură similară cu a celor de interes, pentru a stabili cele mai bune condiții și cele mai mari randamente în reacția de oxidare. Acești compuși model, S-fenil-tioglicozidele 1A, 2A, 3A și respectiv 4A (paragraful III.3) nu sunt reactivi de catalog; ei au fost sintetizați și caracterizați mai întâi, după cum se arată în paragrafele III.3.1 și III.3.2. Odată stabilite condițiile de oxidare pentru acești compuși model, s-a încercat aceeași receptură pentru oxidarea S-glicozidelor mercaptotriazolilor. Aceasta nu a dus la rezultatele scontate, apărând diverse probleme datorită prezenței în moleculă a ciclului triazolic. În continuare se prezintă modalitățile prin care s-au explicat aceste nereușite. Metodele de oxidare care au dus la obținerea sulfonelor dorite se rezumă la:

- oxidarea cu oxonă,
- oxidarea cu apă oxigenată în diverse variante
- oxidarea cu acid metacloroperoxibenzoic
- oxidarea cu permanganat de potasiu

Dintre toate variantele încercate, cea mai des utilizată a fost în final oxidarea cu acid metacloroperoxibenzoic, ce a dus la rezultatele cele mai bune din punct de vedere al randamentului și al prelucrării masei de reacție. Prin această metodă s-au obținut un număr de 9 sulfone ale S-glucozidelor 3-mercapto-1,2,4-triazolilor-5-substituiți, iar apoi, în urma deprotejării, un alt set de nouă compuși glucozilați, complet caracterizați fizico-chimic.

Oxidarea completă și structura compușilor investigați s-a confirmat printr-o multitudine de metode spectrometrice. Astfel, din analiza spectrelor IR ale sulfonelor, atât în seria celor protejate cât și în a celor deprotejate se observă benzile corespunzătoare vibrației legăturii S=O, atât simetrică ( $1170 - 1222 \text{ cm}^{-1}$  pentru seria S-BerPag și  $1104 - 1142 \text{ cm}^{-1}$  pentru seria S-BerGlu) cât și asimetrică ( $1334 - 1374 \text{ cm}^{-1}$  pentru seria S-BerPag și  $1250 - 1317 \text{ cm}^{-1}$  pentru seria S-BerGlu). În seria sulfonelor protejate se observă clar banda corespunzătoare vibrației legăturii C=O din grupările protectoare acetyl, în vreme ce în sulfonele deprotejate aceasta nu este prezentă, dar se observă pregnant o bandă largă după domeniul  $3400 \text{ cm}^{-1}$ , în acord cu prezența în moleculă a mai multor grupări OH libere.

Analizarea spectrelor UV nu furnizează informații utile cu privire la structura compușilor obținuți.

Confirmarea structurii sulfonelor sintetizate a fost efectuată prin spectroscopie RMN, atât de hidrogen cât și de carbon, în plus efectuându-se un set suplimentar de spectre COSY, HETCOR HMQC, HMBC și APT. Se constată astfel că în urma reacției de oxidare nu se modifică configurația centrului anomic, toate sulfonele obținute având configurație anomică  $\beta$ . Această afirmație se poate justifica prin constantele de cuplaj de peste 8 Hz între  $H_1$  și  $H_2$  în fiecare caz investigat.

Conformația ciclului piranozic în toate sulfonele sintetizate nu a avut de suferit în urma reacției de oxidare, fiind cel mai probabil  ${}^4C_1$ . Certitudinea este completă deoarece există argumente numerice experimentale clare pentru  ${}^3J_{1,2}$ ,  ${}^3J_{2,3}$ ,  ${}^3J_{3,4}$ ,  ${}^3J_{4,5}$ , toate având valori peste 9Hz.

Atribuirea identității atomilor de carbon în spectrul  ${}^{13}\text{C}$ -RMN s-a făcut în urma efectuării experimentelor HETCOR, HMQC, HMBC și APT și este certă doar pentru atomii de carbon C1 - C6 din ciclul piranozic.

În cazul sulfonelor deprotejate nu s-au obținut informații suficiente din analiza spectrelor RMN de carbon, de aceea s-a impus o analiză detaliată prin spectrometrie de masă. Astfel s-a izbutit identificarea tuturor ionilor pseudomoleculari  $[M+H]$ ,  $[M+Na]$  și  $[M+K]$ , în spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, iar în spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, a fost identificat de fiecare dată ionul pseudomolecular  $[M-H]$ . Acesta a fost izolat și apoi supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  pentru toată seria de sulfone S-BerGlu. Din analiza spectrelor  $MS^2$  ale sulfonelor deprotejate se pot desprinde următoarele concluzii:

- în toate cazurile se observă fragmentarea tipică compușilor glicozidici, prin care ionul pseudomolecular pierde una sau mai multe molecule de apă.

- în toate cazurile s-a putut observa scindarea legăturii C-S dintre componenta zaharică și aglicon, prin punerea în evidență a fragmentului agliconic (A)(vezi caracterizarea completă, paragraful III.7.1.D)

- în continuare, din fragmentul agliconic se observă scindarea unei molecule de  $SO_2$ , confirmându-se astfel o dată în plus că oxidarea atomului de sulf a fost completă.

- în urma fragmentării se observă și alternativa de scindare a moleculei în care componenta glucidică, de care este atașată gruparea  $SO_2$ , pierde una sau mai multe molecule de apă, specific compușilor glucidici

- pentru cazurile în care substituenții din poziția 5 a inelului triazolic sunt mai voluminoși (S-Ber7Glu, S-Ber9Glu, S-Ber13Glu, S-Ber14Glu, S-Ber15Glu), spectrele  $MS^2$  dau indicații și cu privire la scindarea acestora în fragmente mai mici

În unele cazuri (S-Ber3Glu, S-Ber9Glu, S-Ber13Glu, S-Ber14Glu, S-Ber15Glu) și ionul molecular din  $MS^2$  a putut fi supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$ . și în acest caz au putut fi identificați ionii rezultați. Astfel se pot identifica cu precizie fragmentele moleculare A și B, iar într-un caz (S-Ber13Glu) s-a observat o fragmentare drastică ce are drept consecință pierderea inelului aromatic, a inelului heterociclic, a unui atom de oxigen și a unei molecule de apă din ionul precursor.

S-a realizat astfel sinteza și caracterizarea a 18 compuși noi, printr-o metodă de sinteză optimizată, specifică acestui tip de glicozide.



### III.9. BIBLIOGRAFIE :

#### Bibliografie sulfone

- [1] Lévai A., *Arkivoc* 2003 (xiv) 14-30
- [2] Adam, W.; Curci, R.; Edwards, J.O. *Acc. Chem. Res.*, **1989**, 22, 205; Murray, R.W. *Chem. Rev.* **1989**, 89, 1187; Adam, W.; Hadjiarapoglou, L. *Top. Curr. Chem.* **1993**, 164, 45; Curci, R.; Dinoi, A.; Rubino, M.F. *Pure Appl. Chem.* **1995**, 67, 811; Adam, W.; Smerz, K. *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1996**, 105, 581
- [3] Kiss-Szikszai A., Patonay T., Jekő J., *Arkivoc* **2001** (iii) 40-50
- [4] Murray, R. W.; Shiang, D. L. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1990**, 349.
- [5] Adam, W.; Hadjiarapoglou, L. *Chem. Ber.* **1990**, 123, 2077.
- [6] Sato, K.; Hyodo, M.; Aoki, M.; Zheng, X.-Q.; Noyori, R. *Tetrahedron* 2001, 57, 2469–2476
- [7] Chen C.-J., Song B.-A., Yang S., Xu G.-F., Bhadury P. S., Jin L.-H., Hu D.-Y., Li Q.-Z., Liu F., Xue W., Lu P. and Chen Z., *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 15 (**2007**) 3981–3989
- [8] Bourdon B., Corbet M., Fontaine P., Goekjian P. G., Gueyraud D., *Tetrahedron Letters* 49 (2008) 747–749
- [9] Sathicq A. G., G. Romanelli P., Palermo V., Vazquez P. G., Thomas H. J. *Tetrahedron Letters* 49 (2008) 1441–1444
- [10] Gamelas C. A., Lourenço T., Pontes da Costa A., Simplicio A. L., Royo B., Romão C. C., *Tetrahedron Letters* 49 (2008) 4708–4712
- [11] Richardson, D. E.; Yao, H.; Frank, K. M.; Bennet, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 1729–1739
- [12] Drago, R. S.; Frank, K. M.; Yang, Y.-C.; Wagner, G. W. Proceedings of the ERDEC Scientific Conference on Chemical and Biological Defense Research; US Army Edgewood Research, Development, and Engineering Center, 1997; p. 1998
- [13] Alonso D. A., Najera C. and Varea M., *Tetrahedron Letters* 43 (2002) 3459–3461
- [14] Sato K., Hyodo M., Aoki M., Zheng X.-Q. and Noyori R., *Tetrahedron* 57 (2001) 2469-2476
- [15] Kirihara M., Yamamoto J., Noguchi T., Hirai Y., *Tetrahedron Letters* 50 (2009) 1180–1183
- [16] P. C. Taylor, M. D. Wall and P. R. Woodward, *Tetrahedron* 61 (2005) 12314–12322
- [17] Phillips O. A., Reddy A. V. N., Setti E. L., Spevak P., Czajkowski D. P., Atwal H., Salama S., Micetich R. G. and Maiti S. N., *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 13 (2005) 2847–2858
- [18] Shaabani A. and Lee D. G., *Tetrahedron Letters* 42 (2001) 5833–5836
- [19] Llauger L., He H. and Chiosis G., *Tetrahedron Letters* 45 (2004) 9549–9552
- [20] Teague S. J., Barber S., King S. and Stein L., *Tetrahedron Letters* 46 (2005) 4613–4616
- [21] Trost, B. M.; Braslau, R. *J. Org. Chem.* 1988, 53, 532-537
- [22] McKillop A., Sanderson W.R., *Tetrahedron*, 51(22), 1995, p. 6145-6166
- [23] Arjona O., Menachaca R., Plumet J., *Tetrahedron* 57 (2001) 6751-6755
- [24] Barton D.H.R., Li W., Smith J.A., *Tetrahedron Letters* 39 (1998) 7055-7058
- [25] Varma R. S., Saini R. K., Meshram H. M., *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 6525-6528
- [26] Khurana J. M.; Panda A. K.; Ray A.; Gogia A., *Org. Prep.Proc.* 1996, 28, 234±237
- [27] Kaldor, S. W.; Hammond, M. *Tetrahedron Lett.* 1991, 32, 5043±5046
- [28] Weber J. V.; Schneider M.; Salami B.; Paquer D., *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 1986, 105, 99-102
- [29] Trost, B. M.; Curran, D. P. *Tetrahedron Lett.* 1981, 22, 1287± 1290

#### Bibliografie glicozilsulfone:

- [30] Fernandez-Mayoralas, A.; Marra, A.; Trumtel, M.; Veyrieres, A.; Sinay, P. *Carbohydr. Res.* 1989, 188, 81– 95
- [31] Abdel-Megeid F.M.E., Elkaschef M.A.-F., Abdel-Bary H.M.A., *Carbohydrate Res.* 59 (1977), p. 95-102



- [32] Agnihotri G. and Misra A. K., *Carbohydrate Research* 341 (2006) 275–280
- [33] Singer M., Lopez M., Bornaghi L. F., Innocenti A., Vullo D., C. Supuran T., Poulsen S.-A., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 19 (8), 2009, p. 2273-2276
- [34] Sivapriya K., Hariharaputran S., Suhas V. L., Chandrab N. and Chandrasekaran S., *Bioorg. & Med. Chem.* 15 (2007) 5659–5665
- [35] U. Ellervik, M. Jacobsson and J. Ohlsson, *Tetrahedron* 61 (2005) 2421–2429
- [36] Davis C. B., Hartnell R. D., Madge P. D., Owen D. J., Thomson R. J., Chong A. K. J., Coppel R. L. and von Itzstein M., *Carbohydr. Res.* 342 (2007) 1773–178027
- [37] Owen D. J., Davis C. B., Hartnell R. D., Madge P. D., Thomson R. J., Chong A. K. J., Coppel R. L. and von Itzstein Mark, *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 2274–2277
- [38] Griffin F. K., Paterson D. E., Murphy P. V., and Taylor R. J. K., *Eur. J. Org. Chem.* 2002, 1305–1322
- [39] Pasetto P., Chen X., Drain C. M. and Franck R. W., *Chem. Commun.*, 2001, 81–82
- [40] Belica P.S., Franck R.W., *Tetrahedron Letters* 39 (1998) 8225-8228
- [41] Morais G. R., Humphrey A. J., Falconer R. A., *Tetrahedron* 64 (2008) 7426–7431
- Bibliografie compuși model:**
- [42] Șișu E., Șișu I., Lascu A., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V., *Ann. West. Univ. Timișoara, ser. chem.*, 2001, 10(2), pg. 399-404
- [43] Hanessian S. - Preparative Carbohydrate Chemistry, 1997, Marcel Dekker Inc., ISBN: 0-8247-9802-3 p. 57
- [44] Garegg P. J., *Pure Appl. Chem*, 1984, 56 p. 845
- [45] Johansson R., Samuelsson B., *J. Chem. Soc., Perkin Trans*, 1984, 1, p. 2371
- [46] Lipták A., Jodál I., Nánási P., *Carbohydr. Res.*, 1975, 44:1
- [47] Șișu E., Neanu C., Șișu I., Lascu A., Csunderlik C., Rusu V., *Ann. West. Univ. Timișoara, ser. chem.*, 2001, 10(2), pg. 411-416
- [48] Pedretti V., Veyrieres A., Sinaÿ P. – *Tetrahedron*, 1990, 46, p. 77
- [49] Pfaffli P. J., Hixon S. H., Anderson L. -*Carbohydr. Res.*, 1972, 23, p. 195
- [50] Nenițescu C.D., *Chimie Organică*, vol. I, Ed. Didactică și Pedagogică, București, 1966, pg. 546
- [51] Baxter E. W., Reitz A.B. (Eds.) - *Organic Reaction* vol. 59, John Wiley&Sons, 2002, p. 49, 51
- [52] Lévai A., *Arkivoc* 2003 (xiv) 14-30
- [53] Yang D., Yip Y.-C., Jiao G.-S., Wong M.-K., *Org. Syntheses* 2002, vol. 78, John Wiley & Sons, USA, ISBN 0-471-23580-6, p. 225-230
- [54] Curi D., Pardini V. L., Viertler H., *Quimica Nova* 22(1), 1999, p. 85-93
- [55] Yang D., Yip Y.-C., Jiao G.-S., Wong M.-K., *J. Org. Chem.*, 63, 1998, p. 8952-8956
- [56] Șișu I., Lascu A., Neanu C., Șișu E., *Proceedings of the Second Edition of the Symposium with International Participation New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Environmental Protection*, Timișoara, România, 6-7 Nov., 2008; Ed. Mirton, Book of abstracts; p. 183 (ISSN:2065-0760)
- [57] Șișu I., Dincă N., Neanu C., Lascu A., Popescu D., Șișu E., *XXIX-th Romanian Chemistry Conference – 4-6 October, Călimănești-Căciulata*, Râmnicu-Vâlcea, România, 2006 (ISBN-10 973-750-049-0), p.128
- [58] Falconer R. A., Toth I., - *Bioorg. Med. Chem.* 15 (2007) 7012–7020
- [59] Lascu A., Șișu I., Bercean V., Șișu E., Penescu M., Lupea A. X., *Proceedings of „The 16<sup>th</sup> Symposium on Analytical and Environmental Problems SZAB” Szeged, Hungary, 28 September 2009*
- [60] Ellervik U., Jacobsson M. and Ohlsson J., *Tetrahedron* 61 (2005) 2421–2429

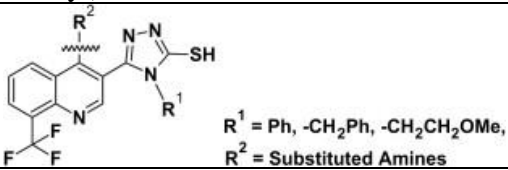
- [61] Lascu A., Bercean V., Şişu I., Pascariu A., Neanu C., Şişu E., *The XXX-th Romanian Chemistry Conference, October 8-10, 2008, Călimăneşti-Căciulata, Vâlcea, Romania*, p. 55 (Book of abstracts; ISBN: 978-973-750-124-0)
- [62] Şişu I., Lascu A., Bercean V., Şişu E., *Proceedings of the Second Edition of the Symposium with International Participation New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Environmental Protection*, Timișoara, România, 6-7 Nov. 2008, Ed. Mirton, Book of abstracts; p. 181, (ISSN:2065-0760)
- [63] Lascu A., Lupea A.X., Şişu I., Neanu C., Rusu V., Şişu E., *Timișoara's Academic Days, 8<sup>th</sup> Edition*, Timișoara, România, 22-23 mai, 2003 (electronic volume), p. 271-278
- [64] Lascu A., Şişu I., Bercean V., Lupea A. X., Şişu E. - Abstracts *Timișoara's Academic Days, XI<sup>th</sup> Ed.*, 28-29 May 2009, Timișoara, România, I.S.B.N. 978-973-52-0630-7 pag. 62
- [65] Lascu A., Şişu I., Bercean V., Căproiu M. T., Lupea A. X., Şişu E. – *Revue Roumaine de Chimie* 55(3), 2010, 205-210
- [66]. Balaban A.T., Banciu M., Pogany I. – Aplicații ale metodelor fizice în chimia organică, Ed. Științifică și enciclopedică, București, 1983, p. 23
- [67]. Pretsch E., Buhlmann P., Badertscher M., *Structure Determination of Organic Compounds*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009
- [68]. C. J. Pouchert, *The Aldrich Library of Infrared Spectra*, 2nd ed., 1975, USA, p. 1066 B

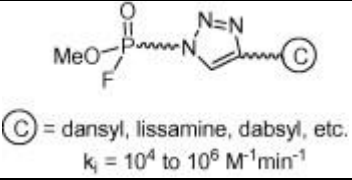
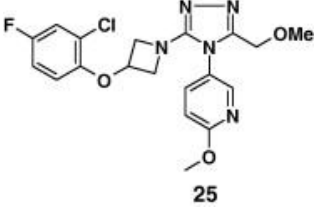
**CAPITOLUL IV**  
**TESTAREA ACTIVITĂȚII BIOLOGICE A GLICOZIDELOR S-**  
**MERCAPTOTRIAZOLILOR SUBSTITUIȚI**

## IV.1 TRIAZOLI ȘI CONGENERI CU ACTIVITATE BIOLOGICĂ

Încurajați de multitudinea de articole de specialitate ce prezintă activitatea biologică a triazolilor și a congenerilor lor, dintre care se prezintă pe scurt în tabelul 1 doar o scurtă trecere în revistă a articolelor disponibile pe site-ul pubmed, din ultimul an, am decis să supunem testării și compușii BerGlu sintetizați în cadrul acestei teze, mai ales datorită faptului că în acest caz triazolii sunt legați de o componentă glucidică, componentă care, în teorie, ar trebui să faciliteze compatibilitatea compușilor cu mediul fiziologic.

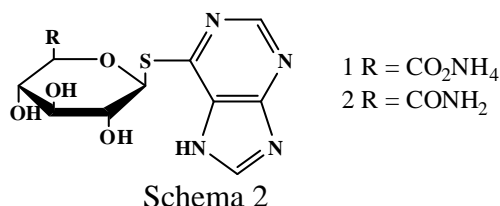
**Tabelul 1.** Scurtă prezentare a diverselor activități biologice ale triazolilor și congenerilor lor

Nr	Compus	Acțiune	Referință
1	N-[3-mercapto-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazol-4-yl]-N'-arylthiourea,		1
2	2-arylamino-5-(2-thienyl)-1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole	Activitate antibacteriană pe bacterii gram-pozitive și gram-negative, activitatea antifungică modestă	1
3	3-arylaminomethyl-5-(2-thienyl)-1,3,4-oxadiazoline-2-thione		1
4	3-(N-substituted anilinomethyl)-5-(2-thienyl)-1,3,4-oxadiazoline-2-thiones		1
5	3-(4-substituted-1-piperazinylmethyl)-5-(2-thienyl)-1,3,4-oxadiazoline-2-thiones		1
6			Activitate antimicrobiană bună
7	3,5-disubstituted-1,2,4-triazolo-[3,4-b]1,3,4-thiadiazole	Activitate antimicrobiană bună, antiinflamatoare și analgezice	3
8	3,5-disubstituted-1,2,4-triazolo-[3,4-b]-5,6-dihydro-triazolothiadiazoles		3
9	1,3-bis-imino-[5-(substituted)phenylamino-1,3,4-thiadiazol-2-yl]-5,5-dimethylcyclohexane	Activitate antibacteriană împotriva bacteriilor gram-pozitive ( <i>S. aureus</i> , <i>C. diphtheriae</i> și <i>S. cerevisiae</i> )	4
10	1,3-bis-imino-[4-(substituted)phenyl-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl]-5,5-dimethylcyclohexane		4
11	(2R,3S)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(5-fluoropyrimidin-4-yl)-1-(1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol – (voriconazole)	Utilizat la combaterea infecțiilor fungice severe, dar ulterior s-a descoperit că are potențial malign serios	5
12	1-[[2-(2R,3S)-3-(2-chlorophenyl)-2-(4-fluorophenyl)oxiranil]methyl]-1H-1,2,4-triazole– (epoxiconazole)	Antifungici agricoli, foarte toxici în combinație unul cu altul	6
13	1-(2-(2',4'-Dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl-methyl)-1H-1,2,4-triazole– (Propiconazole)		6
14	1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-3-(1,2,4-triazole-1-yl-methyl)pentane-3-ol (tebuconazole)		6
15	octanedioic acid hydroxyamide[3-(1-phenyl-1H-	Suprimă creșterea celulelor	7

	[1,2,3]triazol-4-yl)phenyl]amide	canceroase ale pancreasului	
16		Inhibă acetilcolinesteraza	8
17	2-[4-(4-bromophenyl)-5-(2-furyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl]mercaptomethyl-5-alkyl/arylamino-1,3,4-thiadiazoles	Activitate antifungică	9
18	3-(4-methyl-1,2,3-thiadiazolyl)-6-trichloromethyl [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadizole	Activitate antifungică	10
19	 <p style="text-align: center;">25 aryloxyazetidines</p>	Antagoniști de oxitocină	11

De asemenea s-a făcut o trecere în revistă a literaturii cu privire la activitatea biologică a S-glicozidelor mercaptotriazolilor și congenerilor lor, pentru a se confirma interesul cercetării mondiale în această direcție. Rezultatele sunt prezentate în paragraful următor.

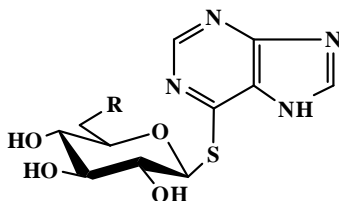




Schema 2

Activitatea compușilor tioglicopiranoziduronici **1** și **2** (Schema 2) a fost testată folosind  $\beta$ -glucuronidaza din ficat bovin. S-a constatat că tioglicozida **1** (schema 2) este substrat pentru  $\beta$ -glucuronidază. Neașteptat este faptul că și compusul **2** (schema 2) s-a constituit ca substrat pentru  $\beta$ -glucuronidază. Deoarece compușii nu au prezentat acțiune inhibitoare în raport cu enzima cercetată, activitatea lor antiproliferativă a fost cercetată pe doua linii celulare: V79 (fibroblaste pulmonare de hamster chinezesc) și L1210 (limfocite din șoarece cu leucemie). Nici compusul **1** și nici compusul **2** nu au prezentat o activitate antiproliferativă semnificativă în raport cu celulele de control.

Pornind de la observațiile degajate din experimentele de inhibiție enzimatică nereușite, se sintetizează o nouă linie de compuși (schema 3), de către același grup, în vederea testării unei presupuse acțiuni antiproliferative, pornind de această dată de la observația că proiecții inhibitori sunt substraturi ale enzimei iar activitatea acestora de scindare a legăturii S-glicozidice poate fi utilizată benefic în scopul eliberării țintite a mercaptopurinei în celule patologice [15].



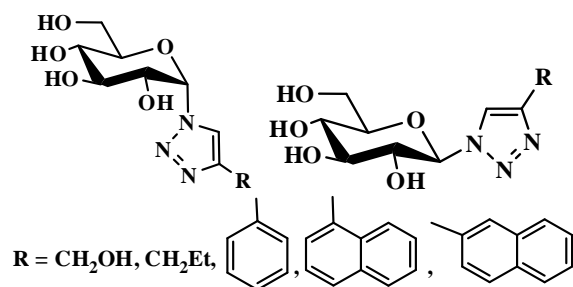
1 R = CO<sub>2</sub>NH<sub>4</sub>    2 R = CONH<sub>2</sub>    3 R = CH<sub>2</sub>OH

4 R = CH<sub>3</sub>    5 R = CO<sub>2</sub>Me

Schema 3

În raport cu substanțele sintetizate, două glicozidaze au fost supuse testărilor la pH=4.7 și la diferite cantități de enzimă:  $\beta$ -glucuronidază din ficatul bovin și  $\beta$ -D-glucozidaza din migdale. Rezultatele obținute nu au fost concludente, iar compușii sintetizați au fost studiați în raport cu activitatea lor antiproliferativă pe linia celulară L1210 din șoareci. Rezultatele prezentate de Institutul Național de Cancer Bethesda, MD (= Maryland) arată că compusul **1** este inactiv după criteriul NCI. Compusul **4** mai lipofil este activ față de L1210 conform criteriului NCI. Nu există informații dacă compusul **4** penetrează celulele canceroase sau dacă este hidrolizat in situ, fie chimic, fie enzimatic.

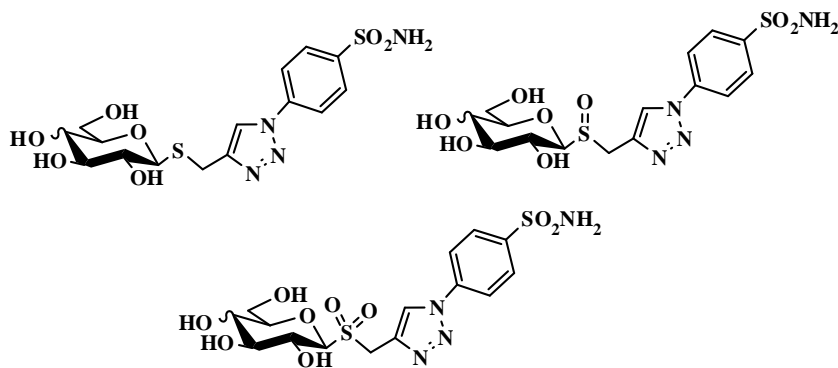
C) În aria de preocupări privind găsirea de noi medicamente de tratare a diabetului, a fost sintetizată o serie de N-glicozide ale  $\alpha$  și  $\beta$  glucozei ce conțin în partea de aglicon un triazol 4-substituit, iar activitatea lor ca inhibitori ai glicogen fosforilazei b (din mușchiul de iepure) a fost testată (schema 4) [16].



Schema 4

Compușii sintetizați, atât protejați cât și deprotejați, au fost testați ca inhibitori dovedindu-se că derivații beta-D-glucopiranozidici au efect inhibitor mai puternic decât compușii alfa-glucopiranozidici și amândouă seriile sunt mai active decât compușii preracetați.

**D)** Două izozime ale anhidrazei carbonice (izozimele IX și XII) sunt supraexprimate într-un spectru larg de tipuri tumorale celulare. Compuși aromatici sulfonamidici sunt inhibitori clasici ai anhidrazei carbonice, și s-a dovedit că acei compuși ce posedă același motiv structural inversează sau suprimă efectele mediate de anhidrazele carbonice asociate cu cancerul, creșterea celulelor canceroase și invazia tumorală. Izozimele IX și XII prezintă o localizare spațială ce le deosebește de izozimele I și II, fiind proteine transmembranare ce orientează domeniul catalitic în spațiul extracelular, în vreme ce izozimele I și II sunt proteine solubile, localizate în citosol. Elaborarea de inhibitori CA ce nu pot difuza prin membrana lipidică ar fi o modalitate de a ținti selectiv doar izozimele CA asociate cu celulele canceroase [17]. O serie de S-glicozide ale glucozei și galactozei având în aglicon 1,2,3 triazoli substituiți cu grupări sulfonamidice, precum și sulfoxizii și sulfonele corespunzătoare au fost sintetizate și activitatea lor inhibitoare în raport cu izoenzimele anhidrazei carbonice menționate au fost studiate (schema 5).



Schema 5

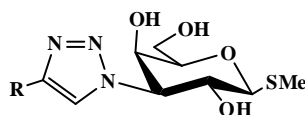
S-Glicozidele deprotejate s-au dovedit inhibitori buni pentru izoenzimele anhidrazei carbonice II ( $K_{iS}$  5.6-6.2 nM), IX ( $K_{iS}$  257-6.1 nM) și XII ( $K_{iS}$  9.5-10.3nM), valorile  $K_{iS}$  fiind distribuite într-un domeniu îngust de valori, din care doar tioglucozida sulfonamică deprotejată se evidențiază cu  $K_{iS}$  257 nM. Valorile  $K_{iS}$  pentru sulfoxizi și sulfone prezintă o distribuție surprinzător mai mică, deoarece oxidarea atomului de sulf al glicozidelor ar trebui să ofere o oportunitate crescută a acestor molecule mici de a interacționa prin legături de hidrogen cu aminoacizii prezenți



pe situsul activ al anhidrazei carbonice, iar activitatea inhibitoare să fie favorizată. În realitate, gradul de oxidare a atomului de sulf din molecula tioglicozidei nu are nici o influență asupra constantelor de inhibiție măsurate. Nici inhibiția enzimei izoenzimei I nu a fost afectată de gradul de oxidare a atomului de sulf din tioglicozidă, pentru nici una din glicozidele testate (glucoză și galactoză). Se observă însă că efectul inhibitor al derivaților galacozidici deprotejați este ușor mai mare față de partenerii glucozidici.

#### IV.2.2. Modularea activității lectinelor

În regnul animal lectinele au o mulțime de funcții biologice, pornind de la reglarea adeziunii celulare până la controlul sintezei glicoproteinelor și al turn-over-ului proteinelor sanguine circulante. Galectina-3 exercită funcții extracelulare, datorită capacității sale de a recunoaște glicanii din matricea extracelulară, a glicanilor din glicoconjugate exprimați la suprafața altor celule, precum și a glicanilor exprimați pe suprafața celulelor circulante. Recent a fost demonstrată prezența și activitatea galectinelor (în particular a galectinei-3) în mediul citosolic [18] unde participă la inhibarea apoptozei, promovarea creșterii celulare și reglarea traducerii semnalului receptorilor de pe celulele T (TCR). O serie de S-galactozide substituie cu triazoli, la C-3 au fost testate în vederea cuantificării activităților inhibitoare asupra galectinei-3 (schema 6) [19].

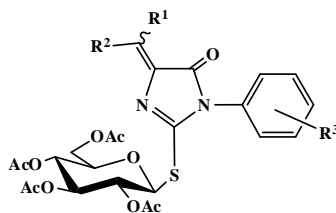


R = CO<sub>2</sub>Me, (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, Ph  
Schema 6

Acest tip de compuși în care ciclul triazolic este amplasat în altă regiune a ciclului zaharic reprezintă inhibitori puternici ai galectinei-3 datorită interacțiunilor puternice ale lectinei cu substituenții R locați la C4 pe ciclul triazolic. Deși autorii articolului nu fac nici o precizare asupra provenienței galectinei luate în studiu, aduc argumente incontestabile ale activității modulatorie a S-galactozidelor triazolice prin izolare, cristalizare și inspecție prin spectroscopie cu raze X a complexului galectină-compus.

#### IV.2.3. Activitate antivirală

Mimetici ai nucleozidelor prezintă activitate antivirală semnificativă, precum cei proiectați împotriva virusului *herpes simplex* (HSV), unul din compușii cei mai activi fiind aciclovirul: 9-[(2-hidroxi)etoxi]metil]guanina. În scopul investigării activității antivirale a hidantoinelor, dirijate împotriva HSV-1 și HSV-2, s-au sintetizat S-glucozidele lor corespunzătoare, structura acestora fiind prezentată în schema 7 [20]:



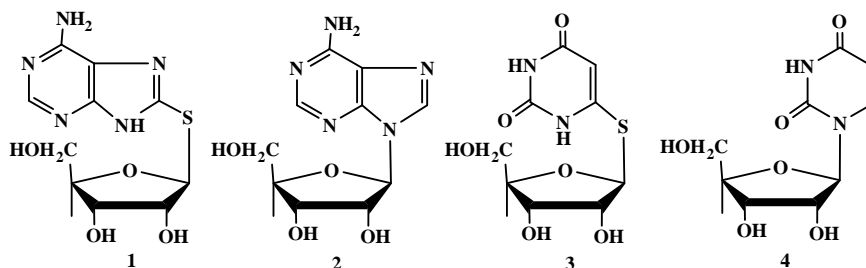
Compus	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
A	H	Ph	H
B	H	2-tienil	H
C	Me	Me	H
D	H	2-tienil	4-Cl
E	H	2-tienil	4-OMe
F	H	3-indolil	H
G	H	2-tienil	4-COOEt
H	H	2-tienil	3-Me

Schema 7

Testele s-au efectuat pe celule Vero și activitatea a fost comparată cu a compusului disponibil comercial, aciclovir. Doar compusul A nu prezintă nici un fel de activitate împotriva HSV-1, la concentrația de 100 μM, toți ceilalți fiind activi. Compușii B și D au activitate antivirală comparativă cu a aciclovirului, însă indexul selectivității (SI) cuprins în domeniul 33-60 este mai mic decât al aciclovirului. Compușii 3-aryl-2-glucopiranozil-2-tiohidantoina A - H au fost testați și ca inhibitori ai virusului HIV în celule MT-4, însă nu s-au înregistrat rezultate încurajatoare.

#### IV.2.4. Activitate antibacteriană

În organismele mamiferelor există o tioglicozidază capabilă să descompună anumite tioglicozide ale 6-mercaptopurinei [21]. Datorită similitudinii geometriei spațiale între 6-amino-8-(β-D-ribofuranozil)tiopurina (**1**) și adenzină (**2**) ca și între 6-(β-D-ribofuranozil)tiouracil (**3**) și uridină (**4**), s-a investigat activitatea lor biologică comparativ cu a 8-mercaptopurinelor sau 6-mercaptopirimidinelor corespunzătoare (schema 8).



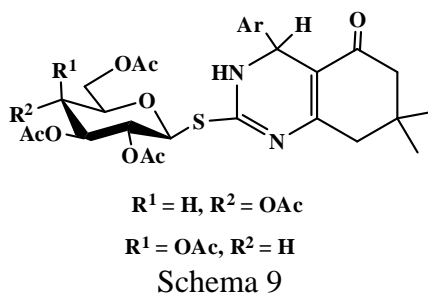
Schema 8

Activitatea biologică a fost măsurată prin inhibarea creșterii celulare pe *Escherichia coli*. Derivatul uridinic nu are nici un efect asupra acestor celule. În sisteme tumorale, adenin S-riboza (A-S-R) are o activitate moderată, în vreme ce uracil S-ribozida are efect inhibitor doar la concentrații de  $1-2 \times 10^{-3}M$ . Datorită sensibilității marcante a *E coli* față de activitatea inhibitoare a A-S-R și pentru a afla dacă activitatea acestui compus se exercită după descompunerea sa în baza

analogă, s-au testat activitățile biologice a doi compuși înrudiți, 8-tioadenina (A-SH) și 8-tioadenozina (AR-SH). Ambii compuși inhibă cu 50% creșterea celulară la *E. coli* la concentrații de  $2 \times 10^{-5}M$ , fiind inactive față de celulele tumorale. Această diferență de activitate biologică este o indicație că în celulă legătura S-glicozidică rămâne intactă. Această afirmație este confirmată și de observația că utilizarea de combinații de A-S-R fie cu A-SH fie cu AR-SH produc aceeași inhibiție sinergică, în vreme ce efectul A-SH combinat cu AR-SH este aditiv. De aici se concluzionează că adenin-S-ribozidele afectează cel puțin un situs metabolic diferit față de cele asupra cărora acționează analogii S-mercapto.

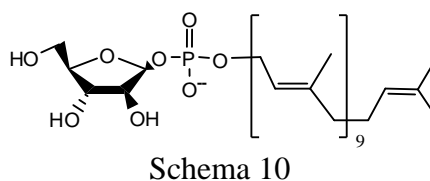
#### IV.2.5. Activitate antiinflamatoare

Deoarece derivații chinazolinici posedă o gamă largă de activități biologice, între care se menționează expres cele antitumorale, sedative, analgezice, antidiabetice și antiinflamatorii [22], o serie de derivați glicozilați ai chinazolinei au fost testați din punct de vedere al activității lor antiinflamatoare (schema 9)[22]. Astfel S-glicozidele (gluco, galacto și ribo) ale 4-(4-clorofenil)-7-dimetil-chinazolin-5-ona-2-tionei au fost testate pe șoareci cu edem indus la membre. Efectele compușilor testați (70 mg /kg corp) administrate oral au fost comparate cu efectul medicamentului standard ibuprofen. S-a dovedit ca derivații S-nucleozidici ai formelor piranozice ale zaharurilor au efecte antiinflamatorii reduse (sub 80% din activitatea ibuprofenului).

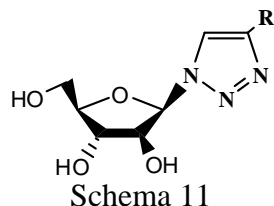


#### IV.2.6. Activitate antimicrobiană

În componența pereților celulari ai micobacteriilor intră două polizaharide specifice, lipoarabinomananul (LAM) și arabinogalactanul (AG). Inhibarea biosintezei uneia dintre aceste polizaharide ar oferi o oportunitate de terapie foarte selectivă. În acest scop au fost vizate în special glicoziltransferazele. Decaprenol fosfoarabinoza este un donor de glicozil esențial utilizat de glicoziltransferaze în sinteza polizaharidelor, deci obținerea unor compuși stabili metabolic ce se aseamănă structural cu aceasta ar putea duce la descoperirea de noi agenți antituberculoși (schema 10) [23]:



N-glicozil triazolii reprezintă o variantă atractivă pentru înlocuirea glicozil fosfatului cu un izoster mai stabil metabolic, mai ales că s-a dovedit că prezintă activități biologice interesante (schema 11)[24]. Lanțul poliprenil al decaprenolului a fost înlocuit cu lanțuri hidrofobe cu lungimi diferite, ca substituenți în poziția 4 a 1,2,3 triazolului: R =  $-(CH_2)_5CH_3$ ,  $-(CH_2)_7CH_3$ ,  $-(CH_2)_9CH_3$ ,  $-(CH_2O(CH_2)_{13}CH_3$ , Ph. Acești compuși au fost apoi testați ca inhibitori ai creșterii celulare pe celule de *Escherichia coli* și de *Mycobacterium bovis BCG*. În urma testelor s-a concluzionat că fenil-triazol glucozida nu prezintă nici un fel de activitate inhibitoare asupra nici unei linii celulare testate, iar octil-triazol-glucozida are o activitate mai pronunțată ca a decil-triazol-glucozidei asupra *M. bovis BCG*.



### IV.3. JUSTIFICAREA TESTĂRILOR BIOLOGICE EFECTUATE PE S-GLUCOZIDELE 3-MERCAPTO-1,2,4-TRIAZOLILOR-5-SUBSTITUIȚI SINTETIZATE

Deoarece în elaborarea de noi medicamente trebuie să se țină seama de anumite criterii, care să scurteze drumul de la acțiunea dorită la aplicarea terapeutică [25] s-au conceput pe computer structurile receptorilor țintă, pentru a putea verifica posibilitățile de legare a unor noi molecule de medicament în situsul activ al acestora. S-a convenit ca metodele de analiză computațională a proprietăților moleculelor de medicamente, a caracterului structural al acestora, să respecte anumite reguli preferențiale, pentru dirijarea sintezei chimice:

- masă moleculară sub 350,
- LogP sub 3.5,
- caracter polar.

În plus, compoziția chimică a medicamentelor este relativ limitată. Atomii fiecărei molecule de medicament au fost grupați după 4 elemente topologice: atomi care fac parte dintr-un ciclu, distanțor, schelet și catenă laterală. Astfel s-a realizat o bază de date cu toate medicamentele cunoscute și s-a constatat că pentru jumătate dintre ele se întâlnesc frecvent 32 de tipologii, ceea ce sugerează că diversitatea formelor medicamentelor cunoscute este destul de redusă. Totuși, aceste medicamente se leagă de clase diferite de receptori și au utilizări farmacologice diferite, datorită proprietăților diferite ale moleculelor, precum polaritatea, conformația, energia legăturilor de hidrogen. Cel mai des întâlnit motiv în aceste molecule este ciclul de 6 atomi, în special nucleul benzenic, cu caracter hidrofob. Aceasta caracteristică a medicamentelor este importantă deoarece interacțiunea ligand-receptor este de natură hidrofobă.

Având în vedere aceste limitări impuse de fiziologie, pentru a se putea testa și alte tipuri de structuri ca potențiale medicamente, s-a impus crearea unui nou concept care să permită diversificarea bazei de date a medicamentelor. Acest concept este cel de bioizosterism.

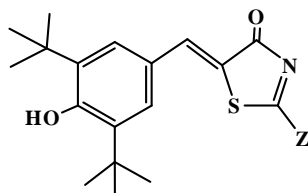
Bioizosterii sunt în principal compuși care au formă și volum aproximativ egale, distribuție electronică similară, proprietăți fizico-chimice asemănătoare și, mai ales, proprietăți biologice înrudite (de exemplu acționând la același receptor farmacologic). Această definiție este una largă, dar perfect aplicabilă pentru limitarea numărului de structuri moleculare ce trebuie prelucrate computațional. Pe această bază, o structură ghid cu o activitate farmacologică benefică ce manifestă efecte secundare nedorite, proprietăți care limitează biodisponibilitatea ei sau care influențează

negativ metabolismul și excreția din organism, poate fi modificată în mod rațional pentru a se elimina caracteristicile indezirabile și a se eficientiza efectele clinice.

Aspectele care subliniază importanța bioizosterilor sunt:

- Fizico-farmacologic – alterarea selectivității, eficacității și afinității față de receptori, fapt ce permite investigarea de noi subtipuri de receptori;
- Farmacocinetic – creșterea fracțiunii din doza de medicament absorbită pe cale orală, a timpului de înjumătățire, scăderea timpului de excreție, alterarea căilor metabolice;
- Clinic – modificarea efectelor clinice și secundare; bioizosterii au adesea efecte similare *in vitro* dar semnificativ diferite în clinică;
- Economic – bioizosterii sunt de obicei structuri noi, pe baza cărora se acordă brevete de invenție; se mai ia în considerare și fezabilitatea economică a procesului tehnologic de sinteză industrială a medicamentului.

Un exemplu de bioizosteri clasici este înlocuirea unei grupări hidroxil din molecula unui medicament cu o grupare tiol, operațiune ce își are utilitatea în proiectarea de noi agenți antiinflamatorii. Folosirea medicamentelor antiinflamatoare nesteroidice pentru tratamentul artritei reumatice a fost asociată cu efecte secundare nedorite. Ca agenți potențial antiinflamatori au fost studiați tiazolii (schema 12), inhibitori pentru ciclooxigenază (CO) și 5-lipoxigenază (5-LO).



Schema 12

Efectele acestor agenți antiinflamatori se atribuie inhibiției enzimei ciclooxigenază (CO), prevenind astfel producerea prostaglaninelor pro-inflamatorii. Leucotrienele produse de 5-lipoxigenază (5-LO) pot de asemenea să contribuie la inflamație și la efectele secundare. Înlocuirea grupei hidroxil cu o grupare tiolică potențează inhibiția ambelor enzime. Mărimea substituentului poate avea importanță în cazul inhibiției CO. Comparând valorile electronegativităților pentru O, N și S, se observă că acesta poate fi un factor important pentru inhibiția 5-LO (tabelul 2). (RMc în tabelul 2 reprezintă refracția molară calculată, proporțională cu volumul substituentului).

**Tabelul 2.** Caracteristici moleculare ale unor tiazoli antiinflamatori și izosterismul tiol - hidroxil, amino

Z	Electronegativitate	RMc	IC <sub>50</sub> (μM)	
			5-LO	CO
OH	3.51	0.28	1.4	0.35
NH <sub>2</sub>	2.61	0.54	0.77	0.39
SH	2.32	0.92	0.38	0.012

IC<sub>50</sub> - reprezintă jumătate din concentrația maximă inhibitoare în substanță activă - half maximal inhibitory concentration

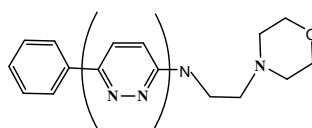
Alt exemplu de bioizosteri clasici sunt benzenul, tiofenul și piridina, care sunt izosteri ciclici. Tabelul 3 indică câțiva parametri caracteristici, de hidrofobicitate (logP), steric (RMc proporțional cu volumul) și punctul de fierbere.

**Tabelul 3.** Parametri caracteristici ai unor cicluri aromatice izostere

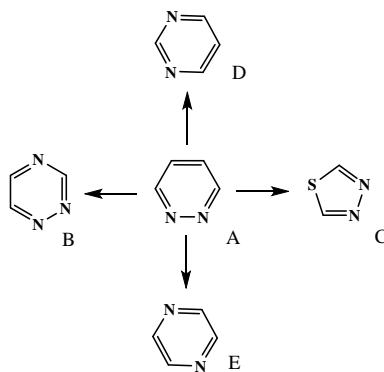
Parametru	Benzen	Tiofen	Piridină
logP	2.13	1.81	0.65
RMc	2.70	2.50	2.48
p.f. (°C)	80	84	115

Conceptul echivalenților ciclici a fost generalizat la orice sistem heterociclic posibil și prezintă un număr enorm de posibilități. Una din problemele majore care apare în cazul bioizosterilor din sistemele heterociclice este selecția candidatului activ dintr-un număr foarte mare de analogi ciclici posibili. Criteriul de selecție este cel mai adesea practic: se analizează bioizosterii cel mai ușor de sintetizat. Reactivitatea chimică este un criteriu de selecție, precum și posibilitatea de a testa bioizosteri cu proprietăți electronice diferite (atrăgător sau respingător de electroni, polar sau hidrofob, mic sau mare).

În metodele de proiectare experimentală, se poate porni de la compararea punctelor de fierbere ale heterociclorilor de bază. Astfel, pentru înlocuirea piridazinei A (schema 14) (p.f. = 208 °C) din compusul biologic activ din schema 13, se prezintă ca cei mai apropiați candidați 1,3,4-tiadiazolul C (p.f. = 204-205 °C) și 1,2,4-triazina B (p.f. = 200 °C)(schema 14).



Schema 13



Schema 14

S-a dovedit că activitățile biologice au fost în concordanță parțială cu selecția pe baza punctelor de fierbere. Astfel, pentru testele de potențarea serotoninei (5-HT)-neurotransmițător, cele mai apropiate activități la înlocuirea inelului piridazinic dau ciclurile B și C (schema 14)(tabelul 3).

**Tabelul 3.** Bioizosteri ciclici selectați pe baza punctelor de fierbere

Heterociclu central	Potențare 5-HT (FD <sub>50</sub> )	Doză minimă efectivă
A	3.7	0.5
B	6	2
C	6	0.1
D	> 50	2
E	30	0.1

Aceste observații se pot explica prin faptul că în seriile heterociclice punctul de fierbere este corelat cu dipol momentul moleculei, iar pentru doi compuși heterociclici având aceeași geometrie, asemănarea între momentele dipol poate reprezenta caracteristica dominantă.

Luând în considerație bioizosteria potențială între inelul piridazinic și 1,3,4-tiadiazolul prezentate în schema 14, s-a conturat ideea existenței unei posibile bioizosterii și între 1,3,4-tiadiazol și 1,2,4-triazol. Din acest motiv, au fost efectuate calcule QSAR pentru tioglucozidele 3-mercapto-1,2,4-triazolilor sintetizați în tematica tezei, pentru a se constata dacă proprietățile lor se încadrează între limitele impuse de modelarea computațională a medicamentelor (masă moleculară sub 350, LogP sub 3.5, caracter polar)[25].

**Tabelul 4.** Parametrii QSAR calculați pentru S-glucozidele sintetizate

<b>nr</b>	<b>Compus</b>	<b>logP</b>	<b>Volum (Å<sup>3</sup>)</b>	<b>Polarizabilitate (Å<sup>3</sup>)</b>	<b>Masa (Da)</b>
1	Ber1Glu	1.82	874.15	39.27	339.37
2	Ber2Glu	2.29	913.41	34.81	353.39
3	Ber3Glu	1.57	953.95	35.44	369.39
4	Ber4Glu	- 0.09	728.95	25.15	277.50
5	Ber7Glu	1.93	1035.03	37.37	403.84
6	Ber9Glu	2.34	891.00	34.90	373.81
7	Ber12Glu	2.77	1119.41	40.95	411.47
8	Ber13Glu	3.34	1179.00	45.10	445.49
9	Ber14Glu	1.91	1003.72	37.28	383.42
10	Ber15Glu	1.91	1004.48	37.28	383.42

## IV.4. PARTE EXPERIMENTALĂ

Scopul testelor biologice efectuate a fost stabilirea *in vitro* a profilului toxicologic al compușilor tioglucozidici noi sintetizați în cadrul temei acestei teze, utilizând diverse linii celulare umane, pentru o potențială aplicabilitate farmaceutică.

Testele biologice au fost executate la Institutul Național de Patologie „Victor Babeș” din București, prin amabilitatea doamnei șef de laborator doctor Gina Manda.

Au fost investigați următorii parametri celulari:

- viabilitatea/multiplicarea celulară (testul excluziei albastrului de tripan, testul reducerii sărurilor de tetrazoliu - MTS)
- integritatea membranelor (testul eliberării lactat dehidrogenazei)

Rezultatele testelor relevă dacă în domeniul de concentrație 0 - 100  $\mu\text{M}$  compușii analizați manifestă citotoxicitate sau nu, funcție de tipul celular investigat.

*Compuși testați:* Ber1Glu, Ber3Glu, Ber4Glu, Ber7Glu, Ber12Glu, Ber13Glu, Ber14Glu, Ber15Glu

### IV.4.1. Metodologie

*Medii de cultură și adaosuri utilizate în experimente:*

- RPMI-1640 este un mediu de cultură pentru celule, elaborat în anul 1966 la Roswell Park Memorial Institute (de unde și prescurtarea) de către Moore și colaboratorii săi. A fost creat pentru a susține viabilitatea celulelor din limfoblastom în cultură. Acest mediu hrănește diverse linii celulare și în absența serului fiziologic. Este utilizat de asemenea pentru creșterea celulelor hibride.

RPMI 1640 (R6767) utilizat în experimente conține (conform indicației producătorului) un amestec format din:

- săruri anorganice [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  = 0.1 g/L,  $\text{MgSO}_4$  = 0.04884 g/L,  $\text{KCl}$  = 0.4 g/L,  $\text{NaHCO}_3$  = 2.0 g/L,  $\text{NaCl}$  = 6.0 g/L,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  = 0.8 g/L],

- aminoacizi [L-arginina = 0.2 g/L, L-asparagina = 0.05 g/L, aspartic = 0.02 g/L, L-cisteina.2HCl = 0.0652 g/L, acid L-glutamic = 0.02 g/L, glicina = 0.01 g/L, L-histidina = 0.015 g/L, hidroxil-L-prolina = 0.02g/L, L-izoleucina = 0.05 g/L, L-leucina = 0.05 g/L, L-lisina.HCl = 0.04 g/L, L-metionina = 0.015 g/L, L-fenilalanina = 0.015 g/L, L-prolina = 0.02 g/L, L-serina = 0.03 g/L, L-treonina = 0.02 g/L, L-triptofan = 0.005 g/L, L-tirozina.2Na.2H<sub>2</sub>O = 0.02883 g/L, L-valina = 0.02 g/L],

- vitamine [D-biotina = 0.0002 g/L, clorura de colina = 0.003 g/L, mio-inozitol = 0.035 g/L, niacinamida = 0.001 g/L, acid p-aminobenzoic = 0.001 g/L, acid D-pantoteic.1/2Ca = 0.00025 g/L, piridoxina.HCl = 0.001 g/L, riboflavina = 0.0002 g/L, tiamina.HCl = 0.001 g/L, vitamina B12 = 0.000005 g/L],

- D-glucoză = 2.0 g/L,

- glutation (reduc) = 0.001 g/L, și

- roșu fenol.Na = 0.0053 g/L.

- DMEM este un mediu de cultură elaborat de Dulbecco/Vogt (Dulbecco/Vogt modified Eagle's minimal essential medium), și reprezintă un mediu minim necesar pentru a menține celule viabile în culturi de țesut. DMEM conține față de mediul minim necesar inițial o cantitate de 4 ori mai mare de vitamine și aminoacizi și de 2 - 4 ori mai multă glucoză. Este un mediu de cultură



portiv pentru majoritatea tipurilor de celule, umane, de maimuță, de hamster, de șoarece, șobolan, pui și pește.

DMEM 8062 utilizat în experimente conține (conform indicației producătorului):

- săruri anorganice [CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O = 0.1166 g/L, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O = 0.0000013 g/L, Fe(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O = 0.00005 g/L, FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O = 0.000417 g/L, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O = 0.0612 g/L, MgSO<sub>4</sub> = 0.04884 g/L, KCl = 0.3118 g/L, NaHCO<sub>3</sub> = 1.2 g/L, NaCl = 6.996 g/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> = 0.07102 g/L, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> = 0.0543 g/L, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O = 0.000432 g/L],

- aminoacizi [L-alanina = 0.00445 g/L, L-arginina.HCl = 0.1475 g/L, L-asparagina.H<sub>2</sub>O = 0.0075 g/L, acid L-aspartic = 0.00665 g/L, L-cisteina.2HCl = 0.01756 g/L, L-cisteina.HCl.H<sub>2</sub>O = 0.03129 g/L, acid L-glutamic = 0.00735 g/L, L-glutamina = 0.365 g/L, glicina = 0.01875 g/L, L-histidina.HCl.H<sub>2</sub>O = 0.03148 g/L, L-izoleucina = 0.05447 g/L, L-leucina = 0.05905 g/L, L-lisina.HCl = 0.09125 g/L, L-metionina = 0.01724 g/L, L-fenilalanina = 0.03548 g/L, L-prolina = 0.01725 g/L, L-serina = 0.02625 g/L, L-treonina = 0.05345 g/L, L-triptofan = 0.00902 g/L, L-tirozina.2Na.2H<sub>2</sub>O = 0.05579 g/L, L-valina = 0.05285 g/L]

- vitamine [D-biotina = 0.0000035 g/L, clorura de colina = 0.00898 g/L, acid folic = 0.00266 g/L, mio-inozitol = 0.0126 g/L, niacinamida = 0.00202 g/L, acid D-pantoteic.1/2Ca = 0.00224 g/L, piridoxal.HCl = 0.002 g/L, piridoxina.HCl = 0.002031 g/L, riboflavina = 0.000219 g/L, tiamina.HCl = 0.00217 g/L, vitamina B<sub>12</sub> = 0.00068 g/L]

- D-glucoza = 3.15 g/L,
- hipoxantina = 0.0021 g/L,
- acid linoleic = 0.000042 g/L,
- roșu fenol.Na = 0.00863 g/L,
- putresceina.HCl = 0.000081 g/L,
- acid piruvic.Na = 0.055 g/L,
- acid DL-tioctic = 0.000105 g/L,
- timidina = 0.000365 g/L.

- PHA-M reprezintă o lectină din *Phaseolus vulgaris*, denumită fitohemaglutinină. Lectinele sunt proteine sau glicoproteine de origine non-imună capabile să aglutineze celule și/sau să precipite carbohidrați complecși. Ele s-au dovedit utile în multe aplicații *in vitro*, dintre care cele mai utilizate sunt: studii asupra grupelor sanguine și de poliaglutinare a eritrocitelor, stimularea mitogenică a limfocitelor, studii de subpopulații limfocitare, fracționare celulară și a altor particule, studii histochemice pe cazuri normale și patologice.

- Lichidul de scintilație este alcătuit din 4 g PPO, 50 mg POPOP dizolvate în 1 L amestec de 60% toluen 40% etanol v/v.

Fitohemaglutinina M (PHA-M L 2646), mediul de creștere RPMI 1640(R6767), mediul de creștere DMEM (8062) soluția antibacteriană- antimicotică au fost achiziționate de la firma Sigma Chemical CO, St. Louis MO, USA.

Uridina marcată cu tritiu [<sup>3</sup>H-Urd] a fost obținută de la Institutul de fizică și inginerie atomică "Horia Hulubei" Măgurele, România. Filtrele Skatron au fost achiziționate de la Skatron Instruments, Sterling, USA

Citirile pentru determinarea viabilității celulare în culturi se efectuează pe camera Bürker-Türk SV210 Counting chamber, achiziționată de la firma ProSciTech.

Citirile testelor de culoare s-au efectuat pe un cititor ELISA BioRad PR3100, ce citește 96 godeuri de probe.

Citirile de radioactivitate, exprimate în pulsuri pe minut (ppm) s-au efectuat pe un  $\beta$ -counter Canberra-Packard Beta Counter (PerkinElmer Life and Analytical Science, Downers Grove, IL, USA)

*Liniile celulare pe care s-au efectuat studiile:*

Studiile *in vitro* au fost realizate pe celule transformate neoplazic (linii celulare standardizate) și celule normale (celule mononucleare umane izolate din sânge periferic și celule endoteliale din linia HUVEC constitutiv proliferative).

Liniile celulare standardizate au fost achiziționate de la Colecția Europeană de Culturi Celulare (ECACC, UK). Au fost luate în studiu linii celulare neaderente și aderente.

Dintre liniile celulare canceroase standardizate s-au ales:

- celule canceroase cu caracteristici imune, care se multiplică în suspensie: limfoblaști T din linia celulară Jurkat și
- celule cu proprietăți de monocit din linia celulară U937.
- celule standardizate provenind din tumori solide - linia celulară de carcinom de sân MCF-7

Dintre celule normale s-au ales:

- celule mononucleare izolate din sânge periferic de la un subiect clinic sănătos
- celule endoteliale umane din cordon ombilical din linia HUVEC

Linia celulară Jurkat, numită inițial JM, a fost prelevată în anii 1970, din sângele unui băiat de 14 ani bolnav de leucemie cu celule T. Acum se pot achiziționa derivați ai acestei linii celulare din bănci de culturi de celule. Celulele Jurkat sunt utile în studierea leucemiei acute cu celule T, în semnalizarea celulelor T și în expresia diferiților receptori susceptibili la virusuri, în special HIV. Utilizarea lor de bază este însă determinarea mecanismului susceptibilității cancerului la diferite medicamente și la iradiere.

Linia U937 reprezintă o linie celulară model, prelevată dintr-un limfom histiocitic al unui pacient de 37 de ani. Este utilizată pentru studiul comportamentului și diferențierii monocitelor. Celulele U937 se maturizează și se diferențiază ca răspuns la stimuli solubili, adoptând morfologia și caracteristicile unor macrofage mature.

Linia celulară de carcinom de sân MCF-7 este o linie celulară de cancer de sân de la o pacientă de 69 de ani, prelevată în 1970 la Michigan Cancer Foundation, unde a și fost cultivată în 1973 de către Herbert Soule. Pe aceste celule prelevate de la această pacientă s-a investigat mulți ani la rând cancerul de sân.

Linia celulară HUVEC reprezintă o cultură de celule endoteliale sănătoase din vena ombilicală umană (prelevate din cordonul ombilical al nou-născuților) (oferită de către Dr. Radu Albulescu de la ICCF București).

*Menținerea liniilor celulare în cultură:*

Liniile celulare au fost menținute în cultură prin pasare, conform indicațiilor depozitorului Colecția Europeană de Culturi Celulare (ECACC):

Celulele nu se utilizează în experimente decât la minim 3 pasaje după dezghețarea celulelor. La fiecare 48 h celulele se numără, se evaluează viabilitatea (cu albastru de tripan) și morfologia lor

(la microscopul optic). Densitatea celulară se reajustează la valoarea menționată în text prin adăugarea de mediu complet. Celulele pasate de mai mult de 25 ori nu se mai utilizează în experimente, fiind posibile modificări de genotip și fenotip.

- Liniile celulare Jurkat și U937 se cultivă în mediu RPMI 1640 suplimentat cu ser fetal bovin, glutamină și antibiotic-antimicotic, la o concentrație celulară inițială de  $2-3 \times 10^5$  celule / mL. Pasajul se realizează la 48 h, astfel încât concentrația de celule să nu depășească  $10 \times 10^5$  / mL.

- Linia celulară tumorală, aderentă, MCF-7 se cultivă în mediu DMEM suplimentat cu ser fetal bovin, glutamină și antibiotic-antimicotic, la o concentrație celulară inițială de  $2 \times 10^4$  celule /  $\text{cm}^2$ . Pasajul se realizează la 48 h prin tripsinizarea celulelor aderente, astfel încât monostratul celular să nu depășească 90 % confluență.

- Celule mononucleare izolate din sânge periferic de la un subiect clinic sănătos prin metoda centrifugării în gradient de densitate (Sepcel,  $d=1.077$ )[26]. Sepcel este un mediu de separare a limfocitelor umane. Suspensia de celule mononucleare obținută se spală de două ori prin centrifugare (10 min, 400 g,  $t = 18^\circ - 25^\circ \text{C}$ ), după care celulele se resuspendă în mediu de cultură RPMI 1640 suplimentat cu ser fetal bovin și antibiotic-antimicotic.

- Celule endoteliale umane din cordon ombilical din linia HUVEC (oferită de către Dr. Radu Albulescu de la ICCF București) se cultivă în mediu DMEM suplimentat cu ser fetal bovin, glutamină și antibiotic-antimicotic, la o concentrație celulară inițială de  $2 \times 10^4$  celule /  $\text{cm}^2$ . Pasajul se realizează la 48 h prin tripsinizarea celulelor aderente, astfel încât monostratul celular să nu depășească 90% confluență.

#### *Parametrii celulari investigați și metodele de lucru:*

A. *Numărul celulelor în suspensie* - se determină prin numărare în camera Burkert-Turk, la microscopul optic.

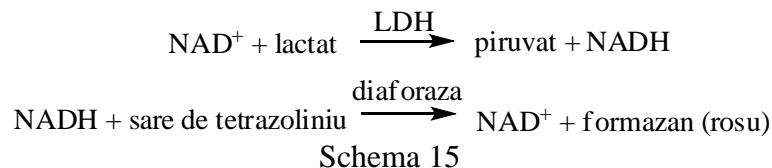
Camera Burkert-Turk este o variantă mai modernă de hemocitometru, un echipament elaborat inițial pentru numărarea hematiilor din sânge. A fost inventat de Louis-Charles Malassez și constă dintr-o lamelă microscopică groasă de sticlă cu o indentație rectangulară ce crează unul sau mai multe compartimente. Aceste compartimente sunt hașurate cu ajutorul unui laser astfel încât hașurile să delimiteze arii cunoscute. Cum se cunoaște de asemenea adâncimea compartimentului, specificată de producător pentru fiecare tip de aparat în parte, se pot număra la microscopul optic celulele sau particulele cuprinse într-un anumit volum de fluid, apoi se poate calcula concentrația de celule în tot fluidul.

B. *Viabilitatea celulară* - se stabilește prin testul excluziei albastrului de tripan. Principiul tehnicii se bazează pe faptul că membrana celulară a celulelor viabile este impermeabilă pentru anumiți coloranți, între care și albastrul de tripan (AT). Celulele viabile rămân prin urmare necolorate, în timp ce membranele plasmatice lezate ale celulelor moarte permit pătrunderea colorantului în interiorul celulelor. Albastrul de tripan este un colorant diazoic, derivat din toluidină.

Protocol general de determinare a viabilității celulare:

20 până la 200  $\mu\text{L}$  de suspensie celulară se amestecă cu un volum egal de albastru de tripan de concentrație 0.4% și se agită ușor la temperatura camerei. După 5 minute se prelevează 10  $\mu\text{L}$  din suspensie într-o cameră Burkert-Turk și se numără celulele vii (necolorate) față de celulele moarte (colorate). Apoi se calculează numărul mediu de celule necolorate din fiecare cvadrant și astfel se poate afla numărul de celule viabile / mL.

C. *Integritatea membranelor* – a fost evaluată prin eliberarea de lactat dehidrogenază (eliberarea LDH), măsurată cu kitul Cytotox96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay [27]. Acest kit măsoară cantitatea de lactat dehidrogenază (LDH), o enzimă stabilă, citosolică, ce este eliberată în timpul lizei celulare. LDH eliberat în supernatantul celular este măsurat într-o probă enzimatică în care are loc transformarea unei sări de tetrazolinu INT = (clorură de 2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-fenil tetrazoliu) (INT) într-un produs formazanic colorat în roșu. Cantitatea de culoare formată este proporțională cu numărul de celule lizate. Reacțiile chimice generale ce au loc în timpul testului Cytotox96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay se prezintă în schema 15:



Protocol general:

Celulele se cultivă prin metodele standardizate pentru fiecare tip de celulă.

1. după încheierea cultivării, în cazul celulelor care se cultivă în suspensie, plăcile de cultură se centrifughează 5 min la 250 g; în cazul celulelor aderente,
2. se recoltează supernatanții de la suprafața culturii centrifugate
3. cultura se centrifughează din nou 5 min la 250 g pentru depunerea celulelor moarte, care sunt neaderente.
4. se recoltează 50 μL din supernatanții depletați de orice fel de celulă,
5. se adaugă 50 μL din amestecul de reacție al probei și
6. se lasă la incubat, la întuneric, la 25 °C, timp de 30 min.
7. reacția se stopează cu reactivul special al kitului.
8. la un cititor ELISA se citește absorbanta la 492 nm. Probele se realizează în simplicitate și din densitatea optică (DO) a probei se subtrage DO medie a fondului (mediu de cultură cultivat fără celule în aceleași condiții cu probele experimentale).

Compoziția soluțiilor tampon și a soluțiilor conținute în cadrul kitului:

PBS + 1% BSA: 0.2g/L KCl, 8.0g/L NaCl, 0.2g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.15g/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1% (w/v) albumină din ser bovin (BSA)

Se solubilizează în apă deionizată și se filtrează prin filtru steril înainte de utilizare.

Soluția pentru liza celulară : 9% (v/v) Triton® X-100

Soluția pentru stopare: 1M acid acetic.

Triton X-100 (C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>O(C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O)<sub>n</sub>) reprezintă denumirea comercială a unui surfactant neionic, ce conține o grupare hidrofilă alcătuită din polietilen-oxid (în medie conține 9.5 unități de oxid de etilenă) și o grupare lipofilă sau hidrofobă hidrocarbonată. Gruparea hidrocarbonată este gruparea 4-(1,1,3,3,-tetrametilbutil)-fenil. Se utilizează în mod curent ca ingredient al spermicidelor, ca detergent în laboratoarele de biochimie, pentru permeabilizarea membranelor celulelor eucariote, și la extracția de ADN ca parte componentă a soluției tampon pentru liza celulară.

Titarea standardului de LDH al kitului:

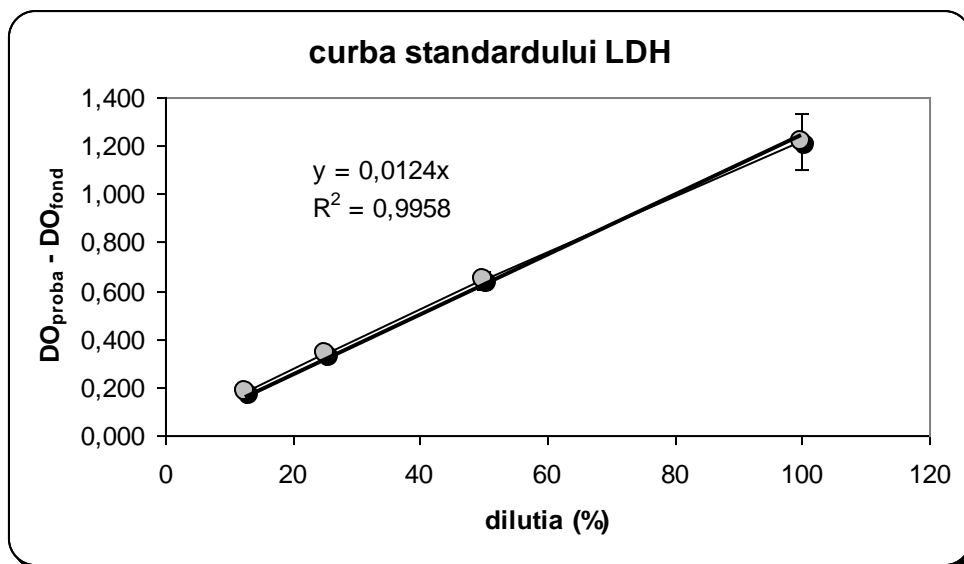
Într-o primă etapă s-a realizat curba de titrare a controlului pozitiv de LDH al kitului CytoTox 96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay kit – Promega Corporation. Controlul a fost preparat conform indicațiilor kitului, după care s-au realizat diluții binare în tamponul indicat în procedură.

S-au realizat 4 de astfel de experimente, pentru care s-a calculat valoarea medie a probei (cu fond substras) (prezentate în anexele 34, 35) pe baza căreia se trasează curba de etalonare.

**Tabelul 6:** Date experimentale pentru elaborarea curbei standardului de LDH al kitului, prelucrate statistic

Diluție standard LDH	1/8	1/4	1/2	1/1
<b>DO<sub>492</sub></b>	0,163	0,321	0,596	1,091
	0,175	0,344	0,646	1,306
	0,186	0,344	0,642	1,156
	0,201	0,357	0,686	1,324
<b>medie</b>	<b>0,181</b>	<b>0,342</b>	<b>0,643</b>	<b>1,219</b>
<b>SD</b>	0,016	0,015	0,037	0,114
<b>CV</b>	9	4	6	9

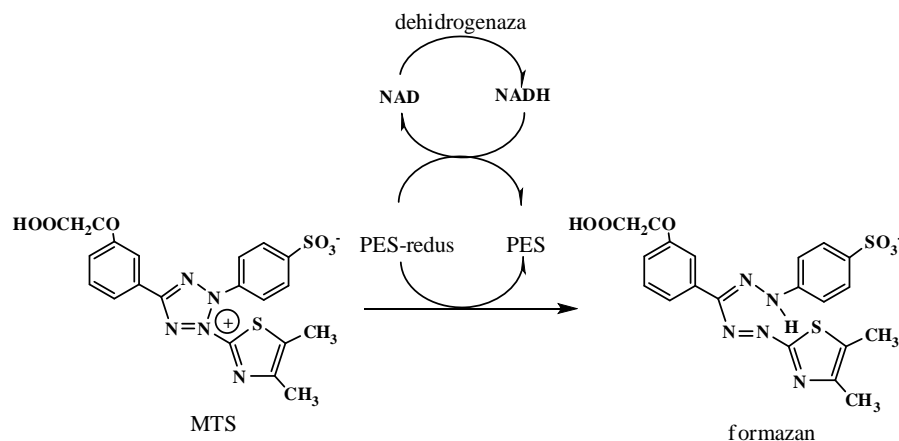
Cu aceste valori s-a trasat curba standardului LDH, prezentată în figura 1.



**Figura 1:** Curba standardului LDH determinată experimental

D. *Viabilitatea / multiplicarea celulară* – a fost evaluată prin testul reducerii compusului de tetrazoliu MTS (reducerea MTS). Testul reducerii MTS a fost realizat cu kitul CellTiter 96<sup>R</sup> AQ<sub>ueous</sub> One Solution Cell Proliferation Assay (Promega Corporation). Aceasta este o metodă colorimetrică de determinare a numărului de celule viabile în probe de proliferare sau de citotoxicitate. Reactivul acestui kit, CellTiter 96 AQ<sub>ueous</sub> One Solution Reagent, conține un compus de tetrazoliu nou, [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazoliu; MTS] și un reactiv acceptor de electroni (fenazin etosulfat; PES). PES are o stabilitate chimică ridicată, ceea ce îi permite să se combine cu MTS cu formarea unei soluții stabile.

Compusul de tetrazoliu MTS (reactivul Owen) este bioredux în celulele viabile la un produs colorat, formazan, care este solubil în mediul de cultură [28]. Conversia este probabil realizată de NADPH sau NADH, produse de dehidrogenaze în celulele metabolic active (schema 16) [28].



Schema 16

Testele se efectuează prin adăugarea de cantități mici de reactiv CellTiter 96 A<sub>queus</sub> One Solution Reagent direct pe plăcile de cultură, apoi incubarea timp de 1-4 ore și apoi înregistrarea absorbantei la lungimea de undă de 490 nm cu un cititor specific (ELISA).

Cantitatea de produs formazan (colorat roșu) măsurată prin absorbanta (densitatea optică DO) la 490 nm este direct proporțională cu numărul de celule vii din cultură. Dependența liniară a fost demonstrată prin diverse teste [34].

Reactivul se păstrează congelat la  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Literatura de specialitate demonstrează că reactivii de tetrazoliu pot substitui cu bună aproximație incorporarea timidinei tritiate [29, 33, 34].

Protocolul general de lucru:

1. se dezgheață CellTiter 96 A<sub>queus</sub> One Solution Reagent timp de aproximativ 90 minute la temperatura camerei sau 10 minute în baie de apă, la  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pentru o probă de 20 mL.
2. se pipetează câte 20  $\mu\text{L}$  de reactiv pe fiecare placă de cultură ce conține mostrele în 100  $\mu\text{L}$  de mediu de cultură (se recomandă utilizarea de pipete digitale pentru asigurarea distribuirii unui volum constant de reactiv pe toate plăcile).
3. se incubă plăcile timp de 3 ore la  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  într-un mediu umed și atmosferă de 5%  $\text{CO}_2$
4. se înregistrează absorbanta la lungimea de undă 492 nm la un cititor ELISA, față de lungimea de undă de referință de 620 nm.

Probele se realizează în simplitat iar din DO măsurată pentru probă se subtrage DO medie a fondului (mediu de cultură cultivat fără celule, în aceleași condiții cu probele experimentale).

E. *Incorporarea uridinei* – a fost evaluată utilizând forma tritiată a nucleozidului, cu concentrația radioactivă de 0,64 mCi/mL (furnizate de IFIN “Horia Hulubei”, Turnu-Măgurele) [30, 31].

Protocol general de lucru:

Celulele se cultivă prin metodele standardizate pentru fiecare tip de celulă.

1. Cu 6 – 18 ore înainte de încheierea timpului de cultivare (dependent de tipul celular investigat, proliferativ sau neproliferativ), celulele se marchează cu  $1\mu\text{Ci}$  nucleozid tritiat / probă.
2. În faza următoare suspensia celulară se filtrează (filtre SKatron),
3. Radioactivitatea depusă pe filtru se măsoară în lichid de scintilație la un  $\beta$ -counter. Citirile de radioactivitate se exprimă în pulsuri/minut (ppm).

#### *Exprimarea rezultatelor experimentale*

Rezultatele experimentale se exprimă ca efect exercitat de compusul investigat (intensitatea răspunsului celular în prezență de compus divizată la intensitatea răspunsului celular în absența compusului (doar diluent)). Valorile mai mari ca 1 arată stimulare, iar cele mai mici ca 1 arată inhibiție.

#### *Statistica*

Comparația efectului exercitat de compus față de efectul unitar s-a realizat utilizând testul Student pentru probe pereche (utilitar EXCEL, funcția TTEST).

Efectul unitar reprezintă intensitatea răspunsului celular în prezență de compus divizată la intensitatea răspunsului celular în absența compusului (doar diluent) = 1. Aceasta semnifică faptul că prezența compusului în mediul de cultură celulară nu are nici un efect.

#### **IV.4.2. Rezultate experimentale**

Compusul Ber1Glu a fost inițial dizolvat în apă prin fierbere. Datorită solubilității scăzute, compușii au fost dizolvați ulterior în dimetilsulfoxid (DMSO) la concentrația de 100 mM. S-au realizat apoi diluții succesive decimale în mediu de cultură RPMI 1640 (R6767) sau DMEM (D8062) astfel încât cea mai mică diluție a DMSO în sistemele experimentale celulare să nu depășească 1/1000.

A fost inițiat un studiu preliminar *in vitro* pentru decelarea potențialelor efecte citotoxice ale compușilor BerGlu. În acest scop am luat în studiu următoarele tipuri de celule:

- celule proliferative normale (celule endoteliale din linia HUVEC, limfocite T periferic activate experimental cu PHA) sau canceroase de natură leucemică (limfoblaști Jurkat și U937) sau provenind din tumori solide (celule de carcinom de sân din linia MCF-7)
- celule normale neproliferative – celule mononucleare umane periferice.

Acest model experimental ia în considerație potențialele diferențe de reactivitate la compus a celulelor proliferative față de cele neproliferative, a celulelor canceroase față de cele normale.

Citotoxicitatea compușilor a fost investigată ca efect asupra următorilor parametri celulari:

- viabilitate / multiplicare celulară (testul reducerii MTS)[32]
- integritate membranară (testul eliberării LDH)
- sinteza ARN (testul radioizotopic de incorporare a uridinei tritiate).

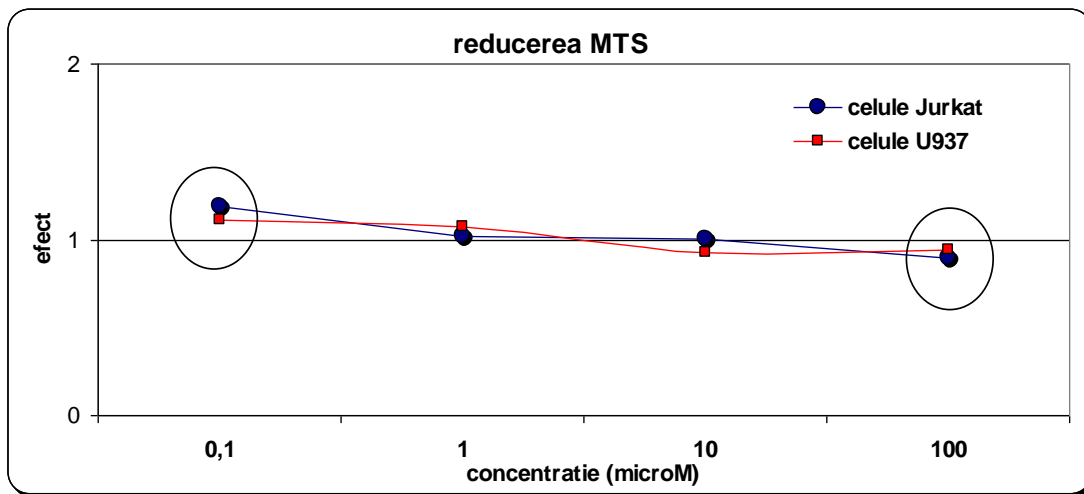


## A. Efectul exercitat de compușii BerGlu asupra celulelor de natură leucemică

Într-un prim studiu a fost investigat comparativ efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber1Glu asupra viabilității/multiplicării celulelor de natură leucemică din liniile Jurkat și U937. Datele experimentale descrise în figura 2 arată că Ber1Glu are tendința de a susține multiplicarea celulelor leucemice la concentrații joase (0,1μM). Este posibil ca la doze mari (>100μM) compusul să devină citotoxic.

Se remarcă de asemenea faptul că Ber1Glu exercită efecte similare asupra celulelor Jurkat și U937, deși aceste celule limfoblastice au natură diferită, celulele Jurkat fiind limfoblaști T, iar celulele U937 fiind celule histiocitare.

Probele s-au efectuat în simplitate. Nu se justifică consumul de reactivi pentru triplicat, deoarece rezultatele sunt clare, iar metoda este supusă la erori relativ mici.

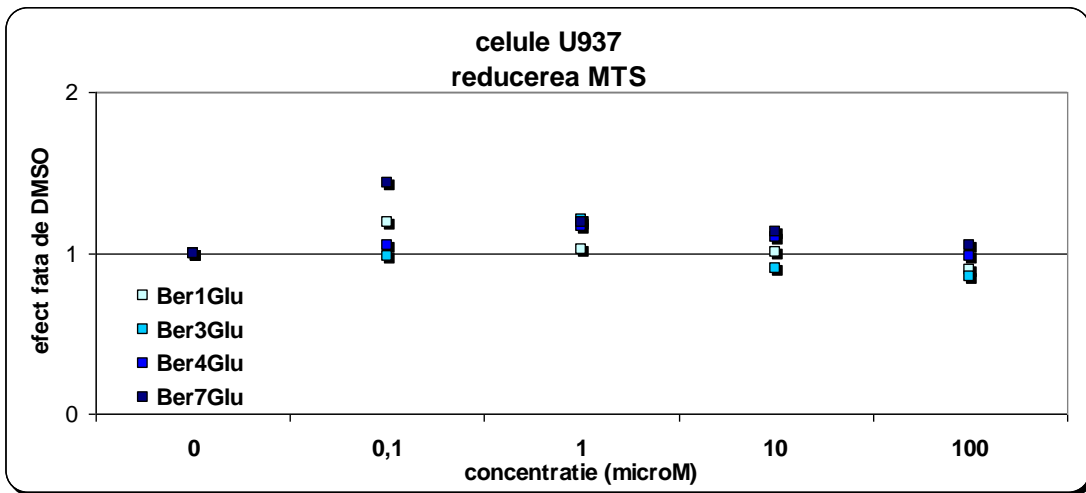


**Figura 2.** Efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber1Glu asupra viabilității/multiplicării celulelor de natură leucemică din liniile celulare Jurkat și U937. Viabilitatea/multiplicarea celulară s-a evaluat prin testul reducerii MTS.

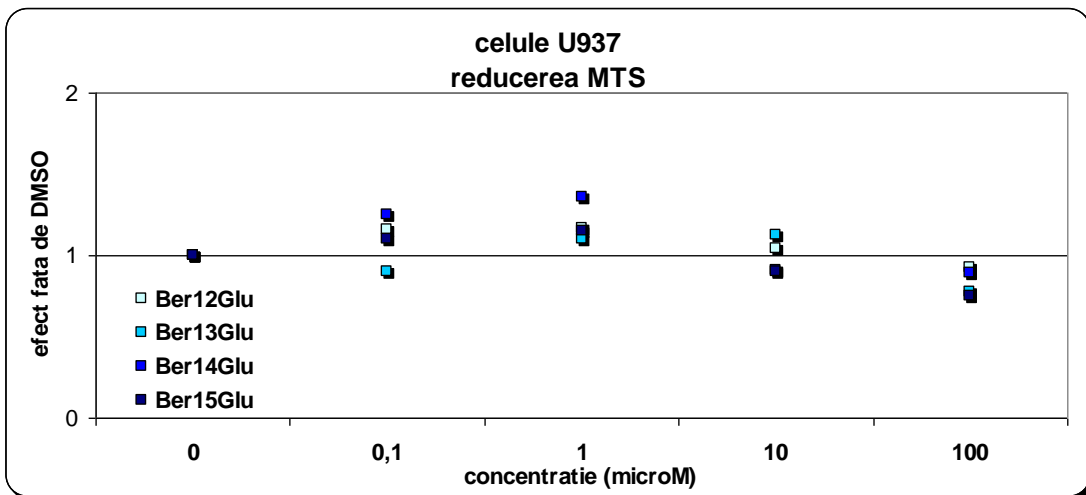
Studiul a fost continuat prin investigarea comparativă a efectelor mai multor compuși din seria BerGlu asupra viabilității/multiplicării celulelor canceroase din linia U937. Datele descrise în figura 3 arată că seria BerGlu luată în studiu are tendința de stimulare a multiplicării celulare în zona de concentrații 0,1 - 1 μM, efectul tinzând să devină citotoxic la concentrații mari (>100 μM).

Interpretarea statistică a rezultatelor (figura 4) arată același tip de efect exercitat de compușii BerGlu luați în studiu, asupra celulelor canceroase din linia U937, respectiv stimulare moderată a proliferării celulare în zona de concentrații 0,1 - 1 μM și tendința de restricționare a viabilității/multiplicării celulare la 100 μM.



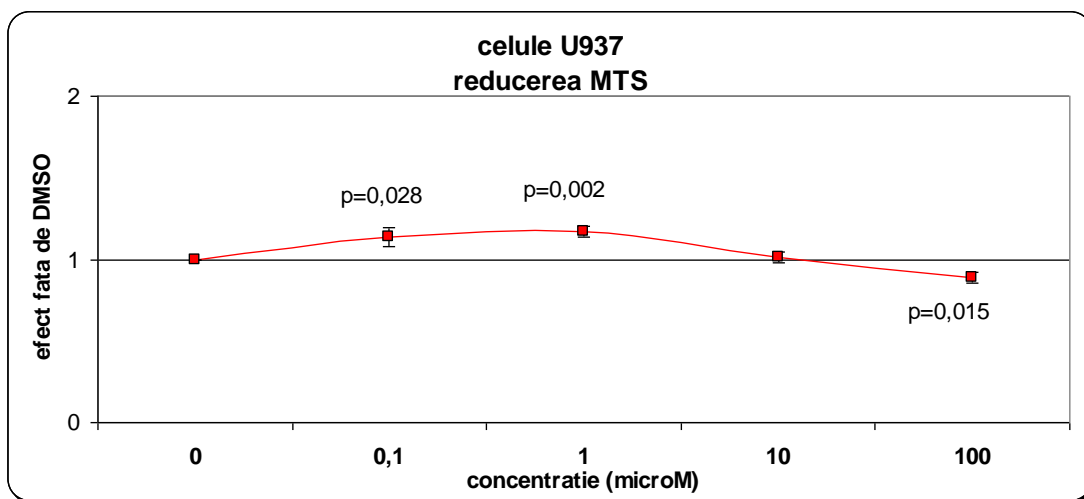


(a)



(b)

**Figura 3.** Efectul exercitat in vitro de compuși din seria BerGlu asupra viabilității/multiplicării blaștilor U937. Viabilitatea/multiplicarea celulară s-a evaluat prin testul reducerii MTS.



**Figura 4.** Efectul statistic exercitat *in vitro* de compuși din seria BerGlu asupra viabilității/multiplicării blastilor U937. Viabilitatea/multiplicarea celulară s-a evaluat prin testul reducerii MTS.

#### **B. Efectul exercitat de compuși BerGlu asupra celulelor mononucleare umane normale**

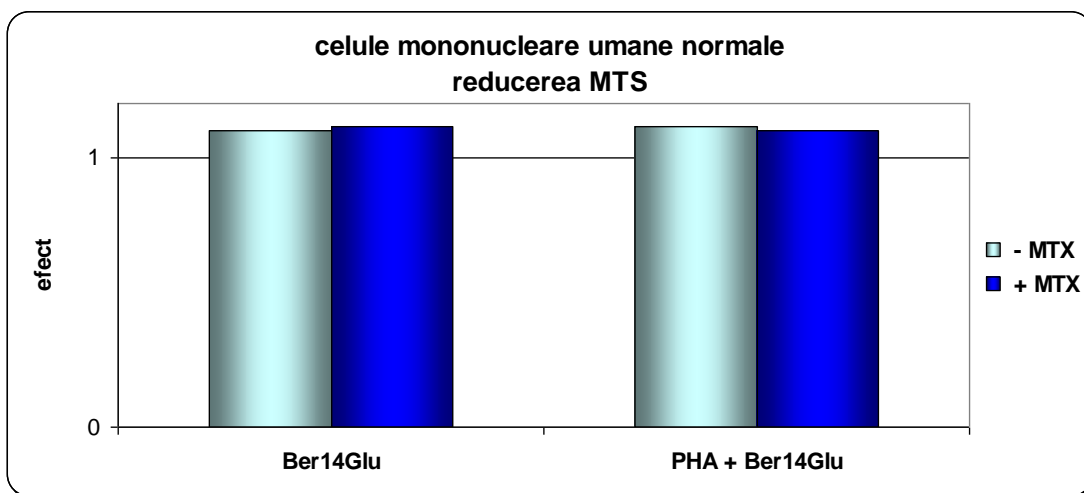
S-a investigat efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber14Glu asupra viabilității/proliferării celulelor mononucleare umane normale periferice. Conform datelor prezentate în figurile 3 și 4, Ber14Glu susține la concentrația de 1 μM proliferarea celulelor canceroase U937 care prezintă caracteristici de monocit și de aceea s-a investigat această concentrație a compusului în studiul efectului său asupra celulelor mononucleare.

A fost investigat efectul Ber14Glu asupra celulelor mononucleare în diverse modele experimentale:

- celule mononucleare „resting”
- celule mononucleare activate experimental cu mitogenul lectinic PHA care induce proliferarea limfocitelor T și activarea monocitelor.

În plus, s-a studiat dacă efectul exercitat de Ber14Glu se modifică atunci când celulele mononucleare sunt inhibitate experimental prin tratare cu 1 μM metotrexat (MTX).

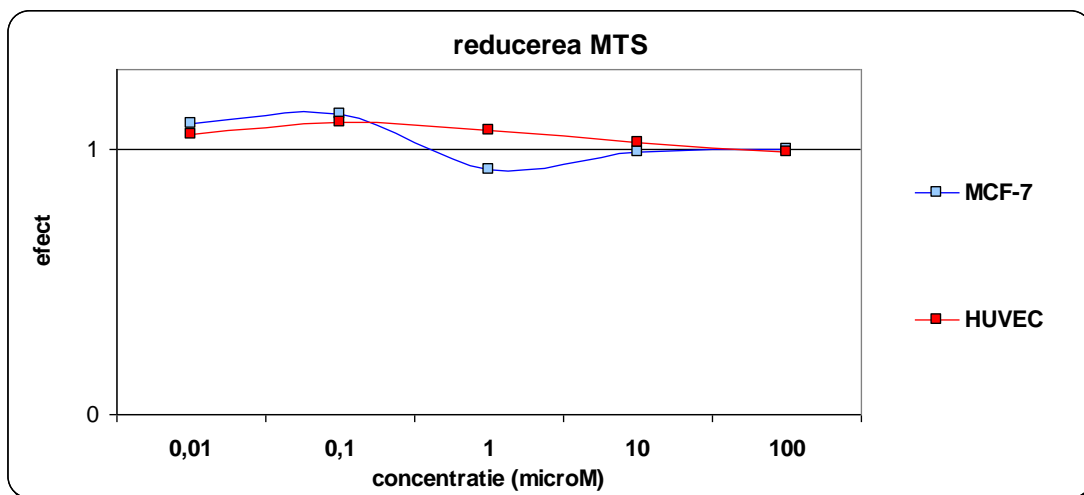
Datele experimentale descrise în figura 5 arată că, indiferent de starea de activare sau de supresie funcțională a celulelor mononucleare, Ber14Glu are tendința de a activa metabolismul celular sau de a induce proliferarea moderată a limfocitelor.



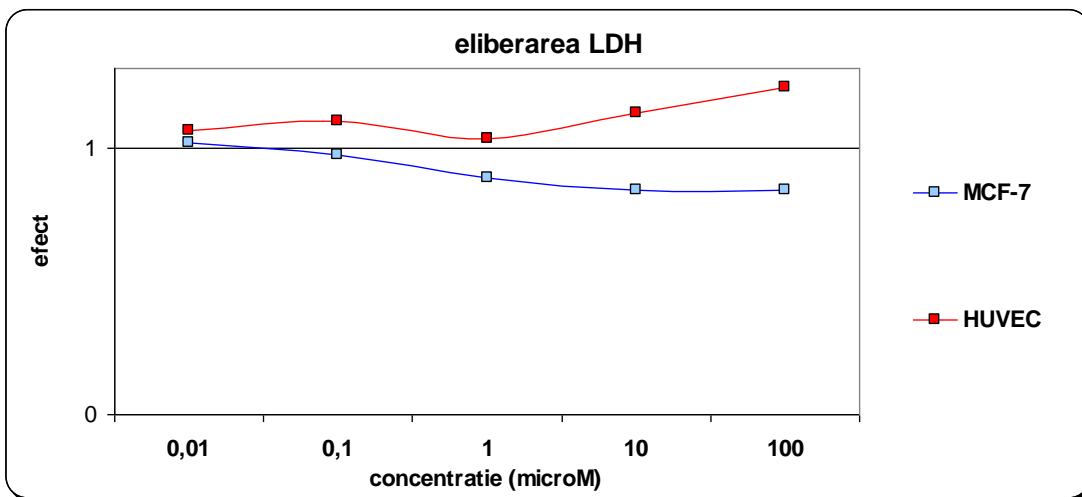
**Figura 5.** Efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber14Glu (1  $\mu$ M) asupra viabilității/multiplicării celulelor mononucleare umane normale. Celulele au fost activate *ex vivo* cu PHA (fitohemaglutinina)(5  $\mu$ M), în prezența sau în absența de MTX (1  $\mu$ M). Viabilitatea/multiplicarea celulară s-a evaluat prin testul reducerii MTS.

### C. Efectul exercitat de compușii BerGlu asupra celulelor aderente proliferative tumorale și normale

A fost investigat efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber1Glu asupra viabilității/multiplicării celulelor aderente proliferative de natură tumorală sau normale, din liniile MCF-7 (carcinom de sân) și respectiv HUVEC (celule endoteliale din cordon ombilical)(figura 6, a și b).



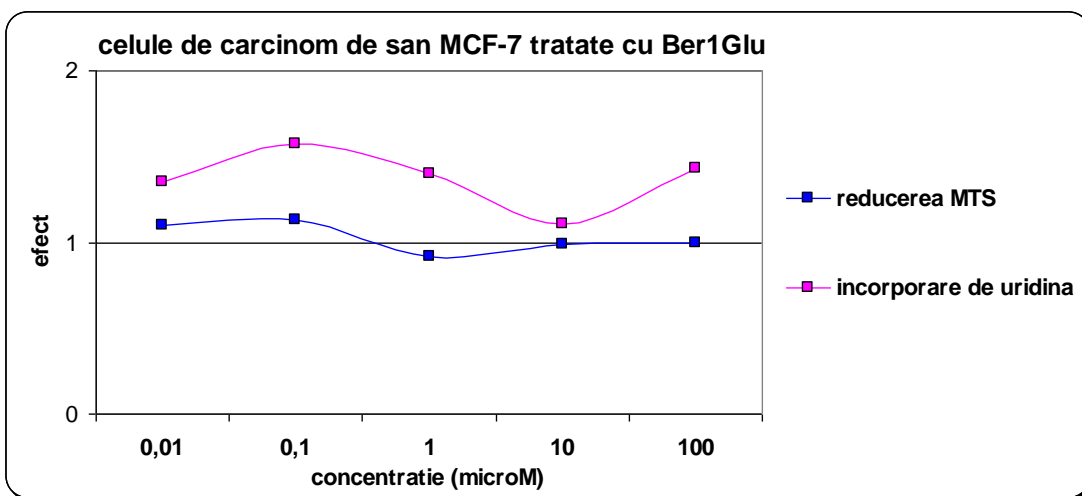
**Figura 6 a.** Efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber1Glu asupra viabilității/multiplicării celulelor aderente proliferative tumorale (MCF-7) sau normale (HUVEC). Viabilitatea/multiplicarea celulară s-a evaluat prin testul reducerii MTS



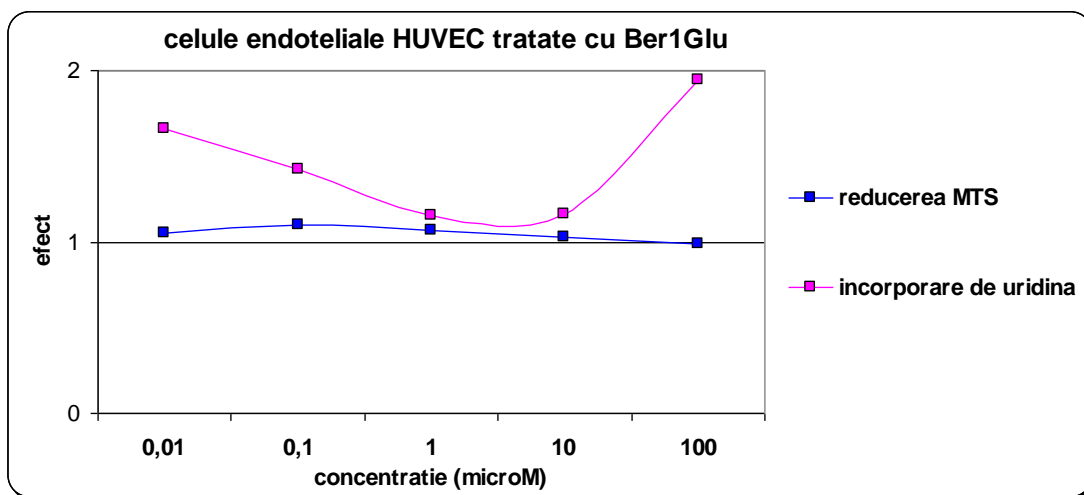
**Figura 6b.** Efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber1Glu asupra viabilității/multiplicării celulelor aderente proliferative tumorale (MCF-7) sau normale (HUVEC). Integritatea membranară s-a evaluat prin testul de eliberare de LDH.

Datele experimentale descrise în figura 6 arată că Ber1Glu are tendința de a susține multiplicarea celulelor aderente proliferative la doze joase 0,01 - 0,1  $\mu\text{M}$ . În același timp, la doze mai mari la care Ber1Glu nu afectează esențial multiplicarea celulară, compusul tinde să perturbe moderat integritatea membranară în cazul celulelor endoteliale din linia HUVEC. În cazul celulelor MCF-7 se constată că Ber1Glu pare să protejeze membrana celulară în condițiile în care are efect de limitare a eliberării LDH de către aceste celule (figura 6 b).

De asemenea se constată că Ber1Glu stimulează semnificativ, în manieră bifazică, incorporarea de uridină de către celulele aderente proliferative tumorale (MCF-7)(figura 7a) sau normale (HUVEC) (figura 7b) Acest efect nu este direct corelat cu viabilitatea/multiplicarea celulară. Stimularea incorporării de uridină reflectă posibil intensificarea sintezei ARN, fără a exclude însă posibilitatea unui alt tip de perturbare a metabolismului nucleozidului.



a



b

**Figura 7.** Efectul exercitat *in vitro* de compusul Ber1Glu asupra metabolismului uridinei în cazul celulelor aderente proliferative tumorale (MCF-7)(a) sau normale (HUVEC)(b). Metabolismul uridinei a fost evaluat ca incorporare de uridină tritiată.

#### IV.5. CONCLUZII

A fost realizat un studiu preliminar *in vitro* privind potențialele efecte citotoxice ale compușilor din seria BerGlu. În acest scop s-a studiat acțiunea compușilor asupra unui panel de celule canceroase (leucemice și tumorale) și normale (celule endoteliale, celule mononucleare) de origine umană pentru a avea potențială relevanță terapeutică. Au fost utilizat modelele experimentale prin care să se poată decela dacă compușii BerGlu acționează diferențiat în funcție de starea de activare celulară.

Datele experimentale obținute relevă faptul că seria BerGlu poate exercita efecte citotoxice la concentrații mari (>100  $\mu\text{M}$ ) neadecvate din punct de vedere terapeutic.

La concentrații mici în domeniul 0,1 - 1  $\mu\text{M}$ , compușii BerGlu tind să stimuleze metabolismul celular care duce la intensificarea moderată a reducerii MTS. Acest efect se exercită indiferent de statusul celulelor, canceroase sau normale, proliferative sau „resting”, activate sau supresate funcțional.

În plus, se constată că BerGlu stimulează la concentrații mici incorporarea de uridină de către celulele tumorale MCF-7 sau de către celulele endoteliale normale proliferative HUVEC. Efecte similare se înregistrează la concentrații mari (100  $\mu\text{M}$ ), la care compușii nu mai activează metabolismul celular.

Aceste rezultate arată că BerGlu pare să stimuleze sinteza de ARN fie datorită intensificării metabolismului celular la doze mici de compuși, fie ca mecanism de adaptare a celulelor la stressul exercitat de dozele mari de BerGlu. În acest context, putem afirma că BerGlu nu este adecvat ca agent anti-tumoral, dar ar putea reprezenta un grup de compuși capabili de a induce regenerare celulară.

#### IV.6. BIBLIOGRAFIE:

1. Al-Omar M.A., *Molecules*, 2010; 15(1):502-14.
2. Eswaran S., Adhikari A.V., Shetty N.S., *Eur J Med Chem*. 2009 Nov; 44(11):4637-47
3. Mathew V., Giles D., Keshavayya J., Vaidya V.P., *Arch Pharm (Weinheim)*. 2009; 342(4):210-22
4. Dabholkar V.V., Ansari F.Y., *Acta Pol Pharm*. 2008; 65(5):521-6
5. Miller D.D., Cowen E.W., Nguyen J.C., McCalmont T.H., Fox L.P., *Arch Dermatol*. 2010.- în curs de publicare
6. Nørgaard K.B., Cedergreen N., *Environ Sci Pollut Res Int*. 2010 Jan 15.- în curs de publicare
7. He R., Chen Y., Chen Y., Ougolkov A.V., Zhang J.S., Savoy D.N., Billadeau D.D., Kozikowski A.P., *J Med Chem*. 2010;53(3):1347-56.
8. Guo L., Suarez A.I., Braden M.R., Gerdes J.M., Thompson C.M., *Bioorg Med Chem Lett*. 2010; 20(3):1194-7
9. Klip N.T., Capan G., Gürsoy A., Uzun M., Satana D., *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2010; 25(1):126-31
10. Fan Z., Yang Z., Zhang H., Mi N., Wang H., Cai F., Zuo X., Zheng Q., Song H., *J Agric Food Chem*. 2009.- în curs de publicare
11. Brown A., Brown T.B., Calabrese A., Ellis D., Puhalo N., Ralph M., Watson L. *Bioorg Med. Chem Lett*. 2010; 20(2):516-20
12. Shen H., Byers L., *Biochem and Biophys. Commun.*, 2007, 362(3), 717-720
13. Awad, O. M. E.; Attia, W. E.; El Ashry, E. S. H. *Carbohydr.Res*. 2004, 339, 469-473
14. Parker, A.; Fedor, L. *J. Med. Chem*. 1982, 25, 1505-1507
15. Zercher C.K., Fedor L.R., *Carbohydr. Res*. 165 (1987) 299-305
16. Bokor E, Docsa T, Gergely P, Somsák L., *Bioorg. Med. Chem*. 2010; 18(3):1171-1180
17. Singer M., Lopez M., Bornaghi L. F., Innocenti A., Vullo D., C. Supuran T., Poulsen S.-A., *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 19 (8), 2009, p. 2273-2276
18. Hsu D. K., Chen H.-Y., Liu F.-T., *Immunological reviews* 2009, vol. 230, p. 211
19. Salameh B. A., Leffler H., Nilsson U. J., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 15 (2005) 3344–3346
20. El-Barbary A.A., Khodair A.I., Pedersen E.B., Nielsen C., *J. Med Chem*. 1994, 37, 73-77
21. Shuman D. A.; Bloch A.; Robins R. K.; Robins M. J., *J. Med. Chem*. 1969, 12, 653
22. El-Gazzar A.-R. B.A., Hafez H. N., Abbas H.-A. S., *European Journal of Medicinal Chemistry* 44 (2009) 4249–4258
23. Wilkinson B.L., Long H., Sim E., Fairbanks A.J., *Bioorg&Medicinal Chem. Lett.*, 18 (2008) 6265-6267
24. Wilkinson B. L., Bornaghi L. F., Houston T. A., Innocenti A., Vullo D., Supuran C. T., and Poulsen S.-A., *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 17 (2007) 987–992
25. Oprea T.I., *Curs de proiectarea moleculară a medicamentului*, Ed. Mirton, Timișoara, 1999, p.89-141
26. Boyum A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 21: 77-89, 1968.
27. CytoTox 96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay Technical Bulletin #TB163, Promega Corporation.
28. CellTiter 96R AQueous One Solution Cell Proliferation Assay Technical Bulletin #TB112, Promega Corporation.
29. Berridge M.V., Tan A.S. Characterization of the cellular reduction of MTT: subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction. *Arch. Biochem. Biophys.*, 303:474, 1993.

30. Riss T.L., Moravec R.A. Comparison of MTT, XTT, and a novel tetrazolium compound for MTS for in vitro proliferation and chemosensitivity assays. *Mol. Biol. Cell (Suppl.)*: 3, 184a, 1992.
31. Manda G., Neagu M., Livescu A., Constantin C., Codreanu C., Radulescu A. Imbalance of peripheral B lymphocytes and NK cells in rheumatoid arthritis. *J. Cell. Mol. Med.*, 7: 79-88, 2003.
32. Afane M., Ramos F., Chassagne J., Dubost Galtier B., Sauvezie B., Discrepancy between 3H-tymidine uptake and cell cycle studies in stimulated lymphocyte cultures treated with methotrexate. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 7 (6): 603-608, 1989.
33. Freimoser F. M., Jakob C. A., Aebi M., Tuor U., *Applied and Environmental Microbiology*, 65, (8) 1999, p. 3727–3729
34. Riss T., Moravec R., Improved Non-Radioactive Assay to Measure Cellular Proliferation or Toxicity: The CellTiter 96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay *Promega Notes Magazine*, 59, 1996, p. 19

## CONCLUZII GENERALE:

Obiectivele tezei de doctorat le-au constituit:

- Studiul reacției de glicozilare a mercaptotriazolilor substituiți,
- Obținerea de derivați ai S-glicozidelor sintetizate și
- Testarea activității citotoxice a compușilor sintetizați.

Toate obiectivele au fost realizate.

Partea experimentală a tezei de doctorat debutează cu studiul reacției de glicozilare a 15 compuși, 3-mercapto-1,2,4-triazolilor 5-substituiți cu 1,2,3,4,6-penta-O-acetil- $\beta$ -D-glucoză. Principalele contribuții proprii, respectiv concluzii sunt următoarele:

1. Aplicarea pentru prima dată a condițiilor reacției Ferrier la obținerea de S-glicozide ale mercapto-heterociclorilor cu azot duce la obținerea exclusivă a  $\beta$ -S-glicozidelor. În condițiile alese nu se observă formarea  $^1\text{N}$ -glicozidelor,  $^4\text{N}$ -glicozidelor sau a  $^4\text{N,S}$ -diglicozidelor, ca în cazul altor metode menționate în literatură.

2. Folosind ca donor de glicozil un zahar peracetilat s-a reușit sinteza a zece peracetil-tioglicozide ale 3-mercapto-2,3,4-triazolilor-5-substituiți. De menționat că literatura de specialitate până la ora elaborării tezei încă indică drept metodă sigură de glicozilare a acestui tip de compuși acetohalogenurile zaharurilor (cu pletora de inconveniente aferente: amestec de S- și N-glicozide, randamente mici). Toți compușii sunt noi, nementionați în literatură.

3. Cele zece tioglicozide corespunzătoare derivaților sintetizați mai sus au fost obținute prin metoda Zemlen, constatându-se faptul că în aceste condiții inelul triazolic rămâne neafectat. Toți compușii sunt de asemenea noi.

4. Au fost stabilite de asemenea: condițiile optime de sinteză (mediu, raport donor/ acceptor/ promotor), condițiile de urmărire a reacției (CSS/ eluent/ developant/ vizualizare) precum și condițiile de purificare avansată prin cromatografie rapidă pe coloană (fază staționară/ eluent) atât pentru S-glicozidele peracetilate cât și pentru cele deprotejate.

5. Structura compușilor noi sintetizați este confirmată prin analize spectrale UV, IR, RMN și de masă.

Analiza spectrelor IR ale tioglicozidelor protejate și deprotejate relevă că acestea prezintă elemente comune cu cele ale agliconilor corespunzători, argument ce confirmă într-o primă fază că reacția de glicozilare a avut loc. De asemenea, toate S-glicozidele protejate prezintă banda caracteristică vibrației legăturii C=O, prezentă în grupele protectoare acetyl ale componentei glucidice a moleculelor, în vreme ce în spectrele IR ale compușilor deprotejați această bandă nu este prezentă.

Natura legăturii glicozidice a fost argumentată pe cale chimică și pe cale spectrală.

Configurația centrului anomic, conformația ciclului piranozic și natura legăturii glicozidice au fost confirmate prin spectrometria RMN de hidrogen și de carbon, precum și COSY, HETCOR, HMQC, HMBC și APT. Astfel, constantele de cuplaj  $^3J_{1,2}$  pentru toate tioglicozidele sintetizate se plasează la valori de peste 8 Hz, ceea ce indică o relație  $\text{H}_{1\text{ax}}-\text{H}_{2\text{ax}}$  pentru toți compușii, deci centrul anomic este în configurație  $\beta$  în toate cazurile. Conformația ciclului piranozic în toate glicozidele sintetizate este  $^4\text{C}_1$ , fapt atestat de constantele de cuplaj  $^3J$  între  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_4$  și  $\text{H}_5$ , care au toate valori mai mari de 9 Hz.

În cazul tioglicozidelor deprotejate nu s-au putut efectua atribuiri precise ale tuturor atomilor de carbon, datorită plasării atomilor de hidrogen alifatici din ciclul piranozic într-o plajă îngustă de valori ale deplasărilor chimice (fapt caracteristic tuturor glicozidelor deprotejate), ceea ce face dificilă interpretarea spectrelor HETCOR. Din acest motiv s-a efectuat analiza detaliată a spectrelor de masă ale tuturor celor 10 tioglicozide de mercaptotriazoli obținute. S-a lucrat atât în mod ion



pozitiv când s-au putut pune în evidență ionii pseudomoleculari  $[M+H]^+$ ,  $[M+Na]^+$  și  $[M+K]^+$  cât și în mod ion negativ, când s-a evidențiat ionul pseudomolecular  $[M-H]^-$ . Operându-se în mod ion negativ s-a izbutit izolarea ionului  $[M-H]^-$  care a fost supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  pentru toți compușii. În unele cazuri s-a izbutit efectuarea și a spectrului  $MS^3$  (figurile 4, 5 și 6 capitolul II.2.4.D), care a fost de asemenea interpretat.

Din analizarea spectrelor de masă  $MS^2$  efectuate în mod ion negativ ale compușilor deprotejați sintetizați, se observă că:

- scindarea legăturii C-S din moleculă are loc în toate cazurile, fiind posibilă identificarea fragmentului de aglicon (fragmentul A din schemele explicite) rezultat.

- în toate cazurile s-au putut identifica fragmente ce duc la confirmarea structurii fiecărui compus analizat în parte

În urma analizării spectrelor  $MS^3$  disponibile, s-a putut confirma atribuirea fragmentelor de bază din scindarea moleculelor, observându-se și o scindare mai avansată a agliconului mai voluminos.

**6.** S-a efectuat un studiu al reacției de oxidare a tioglicozidelor la sulfone pe compuși model. Acesta a relevat că aplicarea metodei clasice de oxidare cu periodat de sodiu și catalizator pe bază de ruteniu pe sintonii aleși duce la obținerea cantitativă a sulfonelor dorite.

În continuare s-a încercat aplicarea aceleiași recepturi și pentru cazul S-glicozidelor peracetilate ale mercaptotriazolilor, fără nici un rezultat satisfăcător. În urma elaborării mai multor strategii de abordare, s-a putut concluziona că în această instanță unul din atomii de azot ai ciclului 1,2,4-triazolic coordonează cationul de ruteniu, împiedicând activitatea sa catalitică.

Utilizarea altor agenți de oxidare menționați în literatură, precum oxona și apa oxigenată în diverse condiții catalitice și de transfer de fază au dus la rezultate medii, desfășurându-se fie cu timpi de reacție foarte mari, fie cu randamente nesatisfăcătoare.

**7.** Prin oxidarea cu acid metacloroperoxibenzoic s-au obținut un număr de 9 sulfone ale 3-mercapto-1,2,4-triazolilor-5-substituiți, complet caracterizate fizico-chimic.

Și aplicarea altor metode de oxidare duce la rezultate excelente:

- în cazul oxidării cu permanganat de potasiu în mediu acid timpul de reacție este scurt, condițiile sunt blânde, randamentul la controlul reacției este cantitativ, însă izolarea produsului din mediul de reacție scade serios randamentul în substanță pură.

- oxidarea cu  $KMnO_4/CuSO_4 \cdot 5H_2O$  este menționată recent în literatură (2006), de aceea am încercat aplicarea și optimizarea acestui procedeu și în cazul tioglicozidelor 3-mercapto-1,2,4-triazolilor 5-substituiți sintetizați. Deoarece utilizarea recepturii generale pentru S-glicozide din literatură nu conduce la obținerea exclusivă a sulfonelor în cazul compușilor ce fac subiectul acestei teze, metoda a fost optimizată, obținându-se sulfone ce se izolează cu un efort minim în stare aproape pură.

**8.** Aplicând metoda de deprotejare Zemplen și pentru sulfonele sintetizate, au fost obținuți alți 9 compuși glucozilați noi, de asemenea complet caracterizați

**9.** Oxidarea completă și structura compușilor sintetizați s-a confirmat prin metode spectrometrice.

Astfel, din analiza spectrelor IR ale sulfonelor, atât în seria celor protejate cât și în a celor deprotejate se observă benzile corespunzătoare vibrației legăturii S=O, atât simetrică cât și asimetrică. În seria sulfonelor protejate se observă clar banda corespunzătoare vibrației legăturii C=O din grupările protectoare acetil, în vreme ce în sulfonele deprotejate aceasta nu este prezentă, dar se observă pregnant o bandă largă după domeniul  $3400\text{ cm}^{-1}$ , în acord cu prezența în moleculă a mai multor grupări OH libere.

Confirmarea structurii sulfonelor sintetizate a fost efectuată prin spectroscopie RMN, atât de hidrogen cât și de carbon, în plus efectuându-se un set suplimentar de spectre COSY, HETCOR

HMQC, HMBC și APT. Se constată astfel că în urma reacției de oxidare nu se modifică configurația centrului anomic, toate sulfonele obținute având configurație anomică  $\beta$ . Această afirmație se poate justifica prin constantele de cuplaj de peste 8 Hz între  $H_1$  și  $H_2$  în fiecare caz investigat.

Conformația ciclului piranozic în toate sulfonele sintetizate nu a avut de suferit în urma reacției de oxidare, fiind  ${}^4C_1$ . În sprijinul acestei concluzii există argumente numerice experimentale clare pentru  ${}^3J_{1,2}$ ,  ${}^3J_{2,3}$ ,  ${}^3J_{3,4}$ ,  ${}^3J_{4,5}$ , toate având valori peste 9Hz.

În cazul sulfonelor deprotejate, plasarea tuturor atomilor de hidrogen din ciclul piranozic într-un interval îngust al deplasărilor chimice face ca interpretarea spectrelor HETCOR de atribuire a atomilor de carbon să fie dificilă. De aceea s-a impus o analiză detaliată prin spectrometrie de masă. Astfel s-a izbutit identificarea tuturor ionilor pseudomoleculari  $[M+H^+]^+$ ,  $[M+Na^+]^+$  și  $[M+K^+]^+$ , în spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion pozitiv, iar în spectrul de masă  $MS^1$  efectuat în mod ion negativ, a fost identificat de fiecare dată ionul pseudomolecular  $[M-H]^-$ . Acesta a fost izolat și apoi supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^2$  pentru toată seria de sulfone S-BerGlu. Din analiza spectrelor  $MS^2$  ale sulfonelor deprotejate se pot desprinde următoarele concluzii:

- în toate cazurile se observă fragmentarea tipică compușilor glicozidici, prin care ionul pseudomolecular pierde una sau mai multe molecule de apă.

- în toate cazurile s-a putut observa scindarea legăturii C-S dintre componenta zaharică și aglicon, prin punerea în evidență a fragmentului agliconic (A)(vezi caracterizarea completă, paragraful III.7.1.D)

- în unele cazuri și ionul molecular din  $MS^2$  a putut fi supus fragmentării prin CID, obținându-se spectrul  $MS^3$ . Și în acest caz au putut fi identificați ionii rezultați.

S-a realizat astfel sinteza și caracterizarea a 38 compuși noi, prin metode de sinteză optimizate, specifice acestui tip de glicozide.

**10.** A fost realizat un studiu preliminar preclinic *in vitro* privind potențialele efecte citotoxice ale compușilor din seria BerGlu. Concluziile acestui studiu se prezintă astfel:

- La concentrații mici în domeniul 0,1 - 1  $\mu$ M, compușii BerGlu tind să stimuleze metabolismul celular care duce la intensificarea moderată a reducerii MTS. Acest efect se exercită indiferent de statusul celulelor, canceroase sau normale, proliferative sau „resting”, activate sau supresate funcțional.

- La concentrații mari (>100  $\mu$ M) au fost înregistrate efecte citotoxice

- La concentrații mici compușii BerGlu stimulează incorporarea de uridină de către celulele tumorale MCF-7 sau de către celulele endoteliale normale proliferative HUVEC. Efecte similare se înregistrează la concentrații mari (100  $\mu$ M), la care compușii nu mai activează metabolismul celular.

Aceste rezultate arată că BerGlu pare să stimuleze sinteza de ARN fie datorită intensificării metabolismului celular la doze mici de compuși, fie ca mecanism de adaptare a celulelor la stressul exercitat de dozele mari de BerGlu. În acest context, putem afirma că seria de compuși BerGlu nu este adecvată ca agent antitumoral, dar ar putea reprezenta un grup de compuși capabili de a induce regenerare celulară.

## LUCRĂRI PUBLICATE ÎN TEMATICA TEZEI:

### Lucrări în reviste ISI:

1. Rusu V., Şişu E., Şişu I., Neanu C., Lascu A., Csunderlik C., Zamfir Z., Katalinic J. P.  
Glicopiranozil fenilsulfone, intermediari valoroşi în sinteza C-glicozidelor 5. Un intermediar, două glicopiranozil-fenilsulfone  
*Rev.Chim. (Bucharest)*, 2002, 53(12), pg. 848-850
2. Şişu E., Lascu A., Bercean V., Căproiu M., Zamfir A., Şişu I., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V. and Katalinic J. P.  
New Glycosyl Derivatives of 5-Substituted-3-mercapto-1,2,4-triazole  
*Rev.Chim. (Bucharest)*, 2003, 54(2), pg. 181-183
3. Lascu A., Şişu I., Bercean V., Căproiu M. T., Lupea A. X., Şişu E.  
Mild and efficient method to obtain glycosyl sulfones of mercaptotriazole  
*Revue Roumaine de Chimie*, 55(3), 2010, 205-210

### Lucrări în reviste cotate CNCSIS:

1. Şişu E., Şişu I., Lascu A., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V.  
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.  
*Ann. West. Univ. Timișoara, ser. chem.*, 2001, 10(2), pg. 399-404
2. Şişu E., Lascu A., Şişu I., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V.  
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  
*Ann. West. Univ. Timișoara, ser. chem.*, 2001, 10(2), pg. 405-410
3. Şişu E., Neanu C., Şişu I., Lascu A., Csunderlik C., Rusu V.  
Synthesis of Glycopyranosyl Phenyl Sulfone-Valuable Synthons in C-Glycosides Synthesis. 3.  
Synthesis of Phenyl 3-O-benzyl-1-thio-β-D-glucopyranoside  
*Ann. West. Univ. Timișoara, ser. chem.*, 2001, 10(2), pg. 411-416
4. Şişu E., Şişu I., Lascu A., Neanu C., Csunderlik C., Humă L., Rusu V.  
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  
*Ann. West. Univ. Timișoara, ser. chem.*, 2001, 10(2), pg. 417-422
5. Lascu A., Şişu E., Neanu C., Şişu I., Rusu V., Csunderlik C.  
New Synthesis of glycosyl sulfones  
*Annals of West University of Timișoara, ser. chem.*, 12 (3) (2003), pg. 139-142
6. Şişu I., Bercean V., Lascu A., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V., Şişu E.  
Synthesis of S-glycosides by PTC  
*Annals of West University of Timișoara, ser. chem.*, 12 (3) (2003), pg. 1393-1398

**Lucrări apărute în volumele colective ale unor manifestări științifice naționale și internaționale (extenso):**

1. Lascu A., Șișu E., Neanu C., Șișu I., Rusu V., Zamfir A., Bindilă L., Csunderlik C.  
New Synthesis of Glycosil Sulfones  
*The 4-th Regional Symposium-"Young People and the Multidisciplinary Research", 14-15 Noiembrie, 2002, Timișoara, România, Ed. Sudura, Timișoara, România, (electronic volume), (ISBN 973-8359-10-4) pg. 498-50*

2 Lascu A., Lupea A. X., Șișu I., Neanu C., Rusu V., Șișu E.  
Strategii moderne în sinteza glicozidelor  
*ACADEMIC DAYS - The 8th Edition, Timișoara, Romania, 22 - 23 May 2003, (electronic volume) pg.: 271-278*

3. Lascu A., Șișu I., Bercean V., Șișu E., Penescu M., Lupea A. X.:  
Environmentally friendly conditions for synthesis of glycosil sulfone with heterocyclic moiety  
*Proceedings of the 16th Symposium on Analytical and Environmental Problems SZAB Szeged, Hungary, 28 September 2009, pg. 39-44*

**Lucrări apărute în volumele colective ale unor manifestări științifice naționale și internaționale (abstract):**

**-în străinătate:**

1. Șișu E., Lascu A., Neanu C., Zamfir A., Șișu I., Rusu V.  
Syntheses of glycosyl sulfones, intermediates in obtaining C,O-glycosides  
*Fifth Summer School on Green Chemistry, Venice – ITALY, September 8-14, 2002, Book of Abstracts, pg. 26*

2. Șișu I., Bercean V., Lascu A., Căproiu M., Neanu C., Csunderlik C., Rusu V., Șișu E.  
Synthesis of S-Glycosides by PTC  
*Sixth Post-Graduate Summer School on Green Chemistry, Venezia – ITALY, August 31<sup>th</sup> - September 6, 2003*

3 Neanu C., Șișu I., Lascu A., Csunderlik C., Bercean V., Șișu E.  
New Synthesis of Glycosyl Derivatives of 5-Substituted-3-Mercapto-1,2,4-Triazole  
*Ischia Advanced School of Organic Chemistry – IASOC, Ischia Porto (Napoli) – ITALY, September 18-23, 2004, pg. 75*

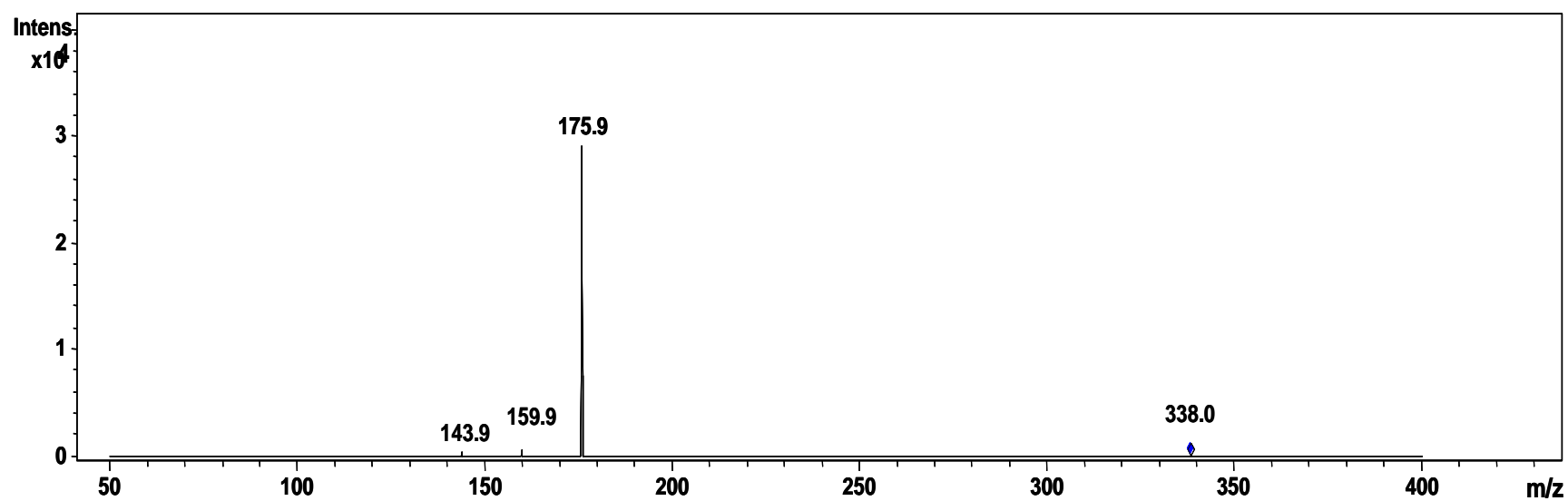
**-în țară:**

1. Șișu I., Dincă N., Neanu, C. Lascu A., Popescu D., Șișu E.  
The synthesis of Glycosil-sulphone Starting from S-Phenyl Glycosides, Using In Situ Generated Dioxiranes as Oxidizing Reagents  
*XXIX-th Romanian Chemistry Conference – 4-6 October, 2006, Călimănești-Căciulata, Vâlcea, Romania, (ISBN-10 973-750-049-0), pg. 128*

2. Lascu A., Şişu I., Neanu C., Bercean V., Rusu V., Şişu E.  
Aryl substituted mecapto-triazoles and their glycosides  
*Proceedings "New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Enviromental Protection"*, 8-9 Nov., 2007, Timișoara, Romania;  
(Book of abstracts; ISBN: 978-973-52-0217-0); pg.108-110
3. Lascu A., Bercean V., Şişu I., Pascariu A., Neanu C., Şişu E.  
Glicopiranozilsulfone ale mercaptotriazolilor. Sinteză și caracterizare  
*The XXX-th Romanian Chemistry Conference, October 8-10, 2008*, Călimănești-Căciulata, Vâlcea, Romania ISBN 978-973-750-124-0, pg.55
4. Lascu A.  
Metode de obținere a tioglicozidelor – donori de glicozil în chimia carbohidraților  
*Simpozionul Contribuții ale Tinerilor Cercetători la Dezvoltarea Direcțiilor Prioritare în Chimie*, Timișoara, România, 23 mai 2008, (electronic volume), pg. 8
5. Lascu A., Bercean V., Şişu I., Neanu C., Şişu E.  
New syntheses of thioglycosides  
*Proceedings of the Second Edition of the Symposium with International Participation New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Environmental Protection*, Timișoara, România, 6-7 Nov., 2008; Ed. Mirton, Book of abstracts; p. 187, (ISSN:2065-0760)
6. Şişu I., Lascu A., Bercean V., Şişu E.  
Thioglycoside oxidation products. Synthesis and characterization  
*Proceedings of the Second Edition of the Symposium with International Participation New Trends and Strategies in the Chemistry of Advanced Materials with Relevance in Biological Systems, Technique and Environmental Protection*, Timișoara, România, 6-7 Nov. 2008, Ed. Mirton, Book of abstracts; p. 181, (ISSN:2065-0760 )
7. Lascu A., Şişu I., Bercean V., Lupea A. X., Şişu E.  
Glycosides of mercaptotriazoles substituted with functionalized aromatic nuclei  
*Abstracts Timisoara's Academic Days, XI<sup>th</sup> Ed.*, 28-29 May 2009, Timișoara, România, I.S.B.N. 978-973-52-0630-7 pag. 61
8. Lascu A., Şişu I., Bercean V., Lupea A. X., Şişu E.  
New procedure for obtaining sulfones in moderate conditions  
*Abstracts Timisoara's Academic Days, XI<sup>th</sup> Ed.*, 28-29 May 2009, Timișoara, România, I.S.B.N. 978-973-52-0630-7 pag. 62

# ANEXA 1

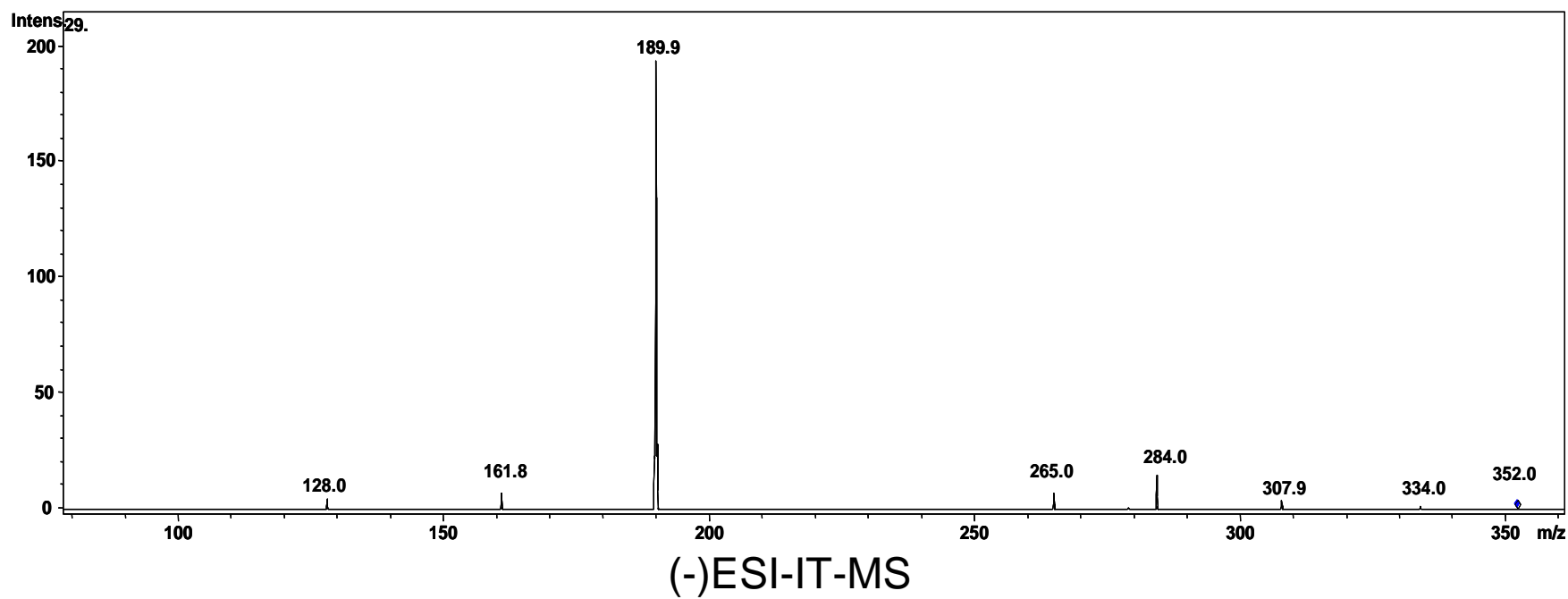
BER1GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 338$ )



(-) ESI-IT-MS

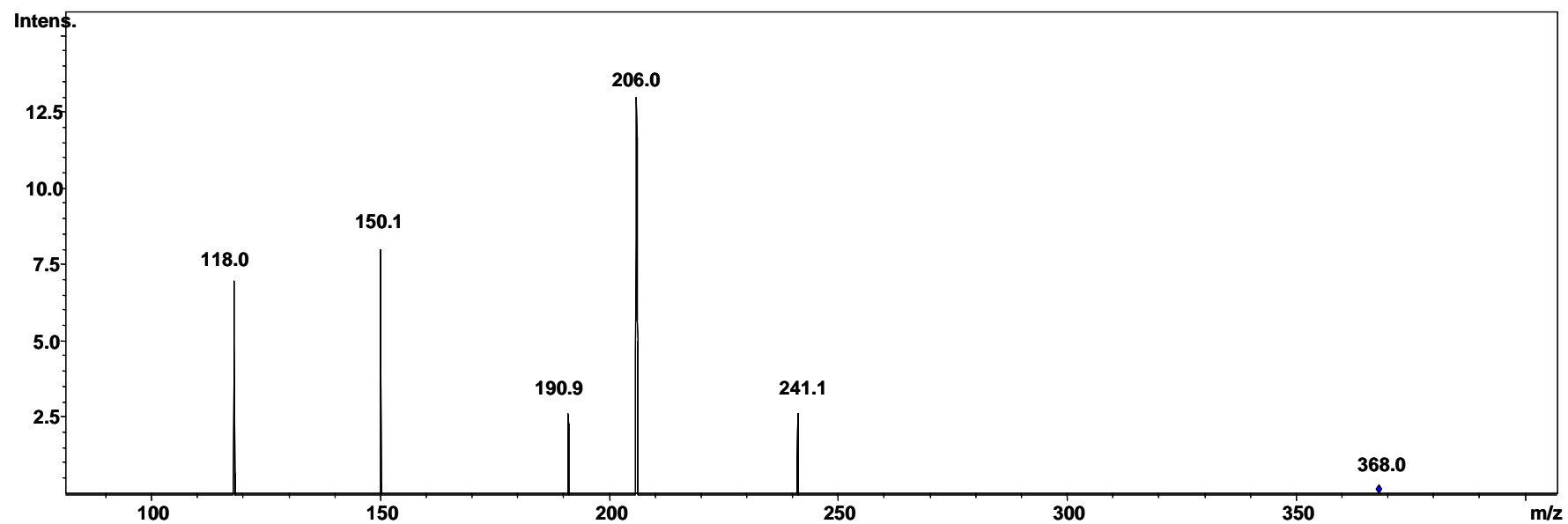
# ANEXA 2

BER2GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 352$ )



# ANEXA 3

BER3GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 368$ )

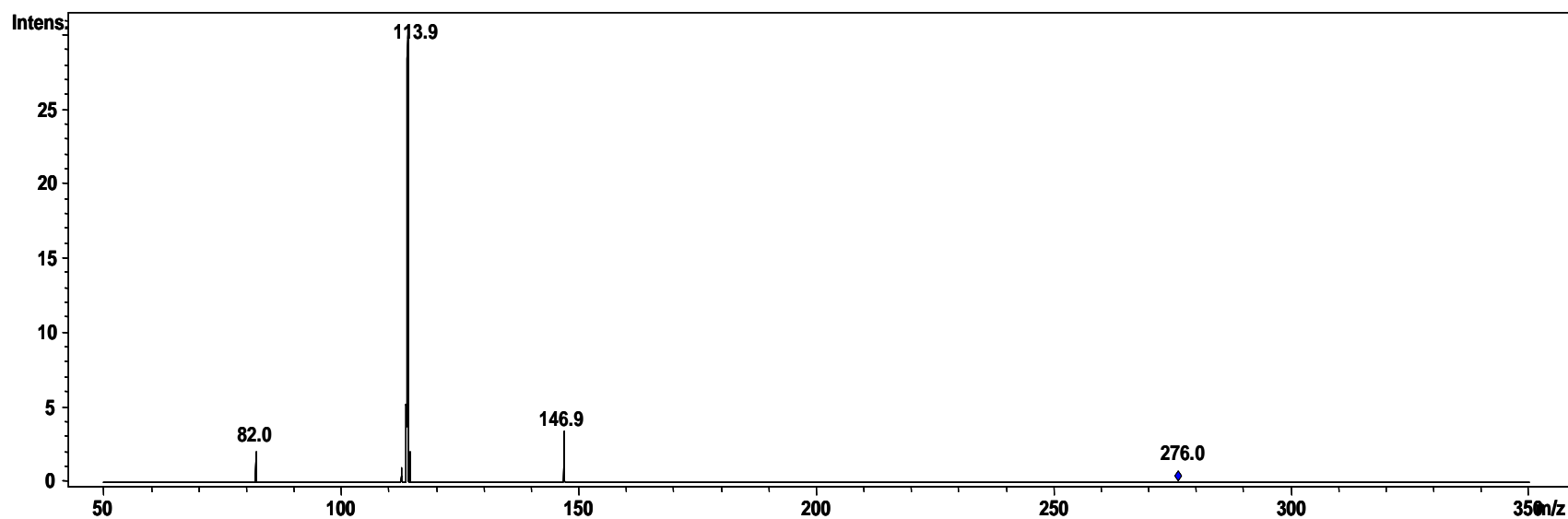


(-)ESI-IT-MS



# ANEXA 4

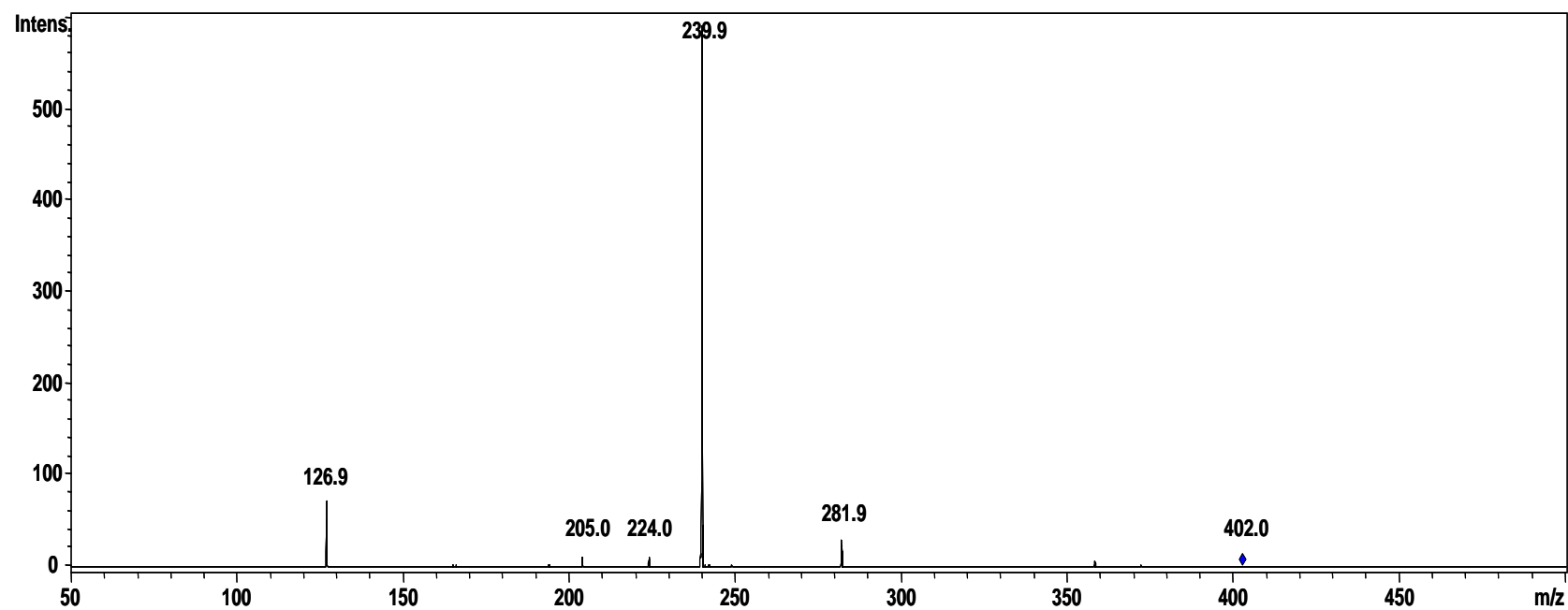
BER4GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 276$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 5

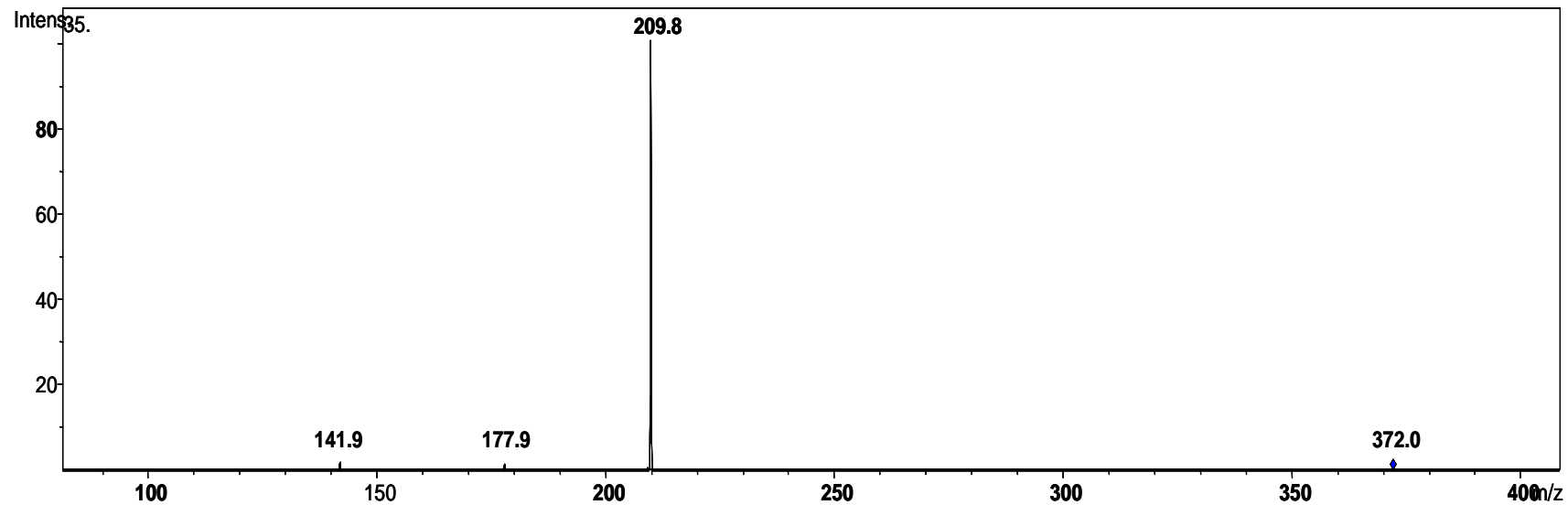
BER7GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 402.5$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 6

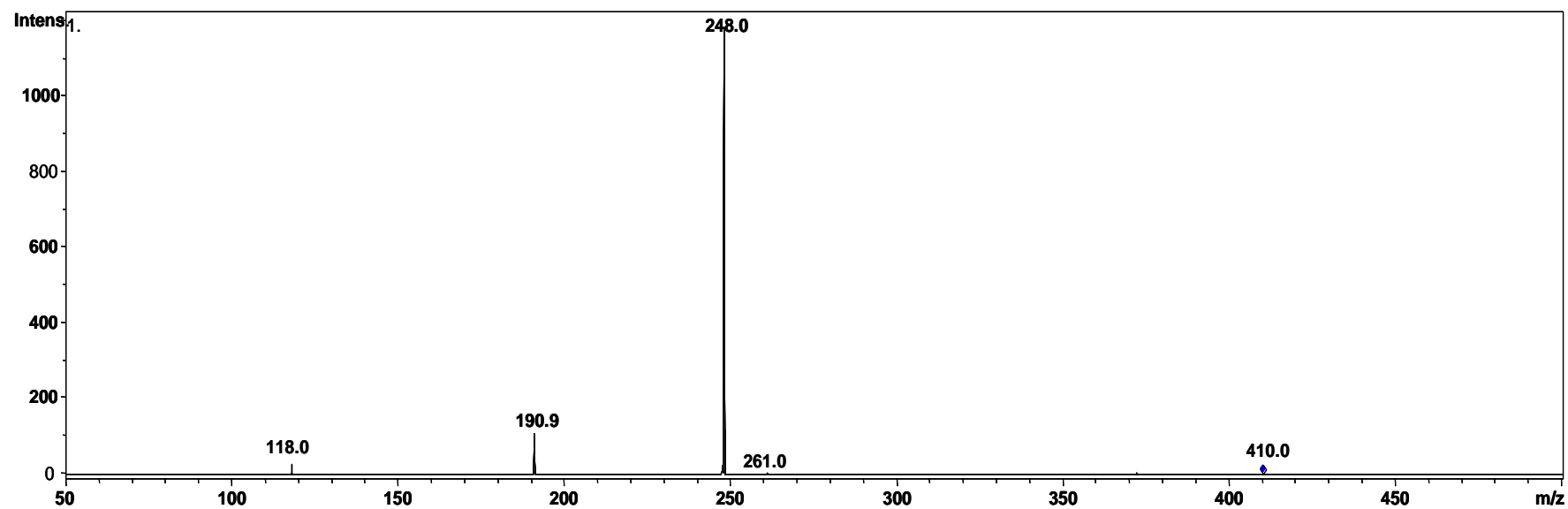
BER9GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 372$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 7

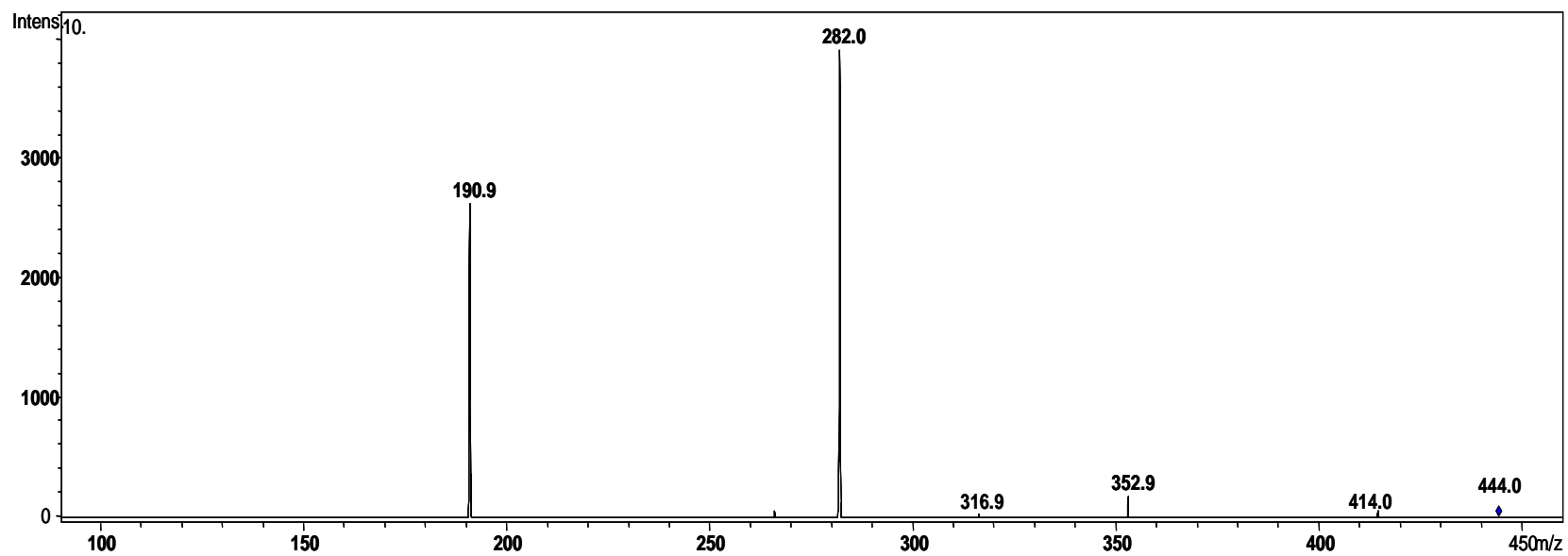
BER12GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 410$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 8

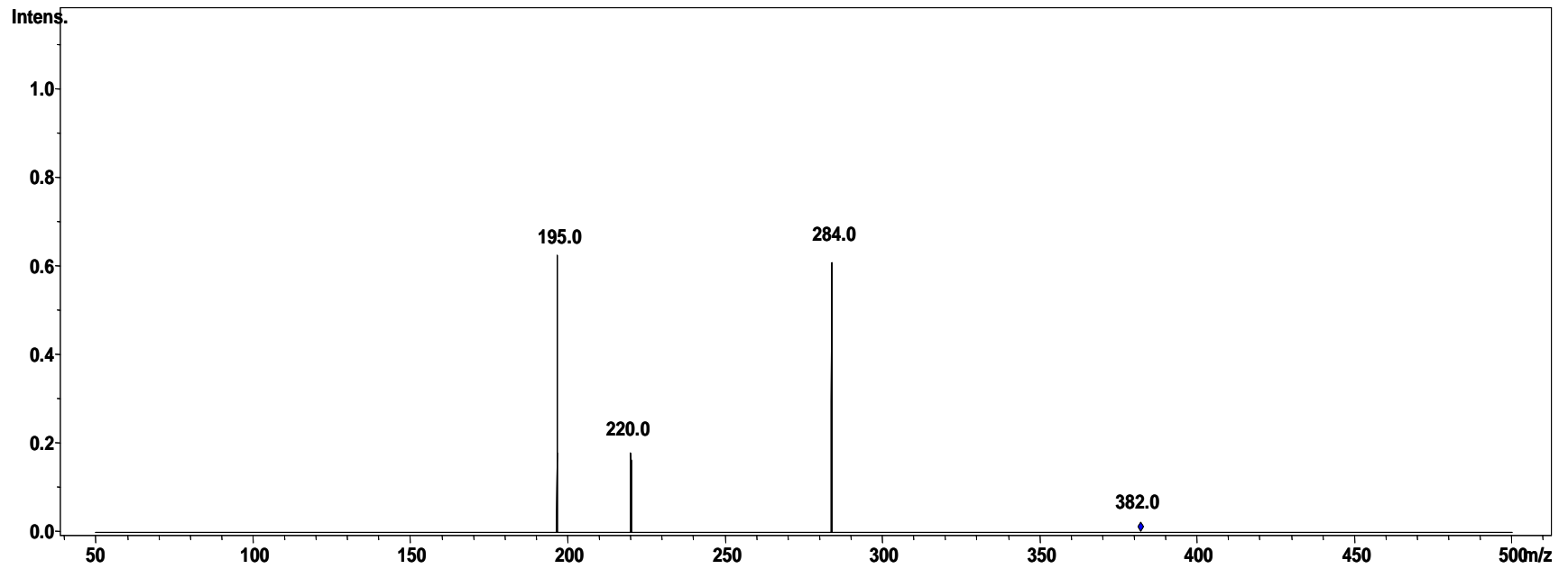
BER13GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 444$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 9

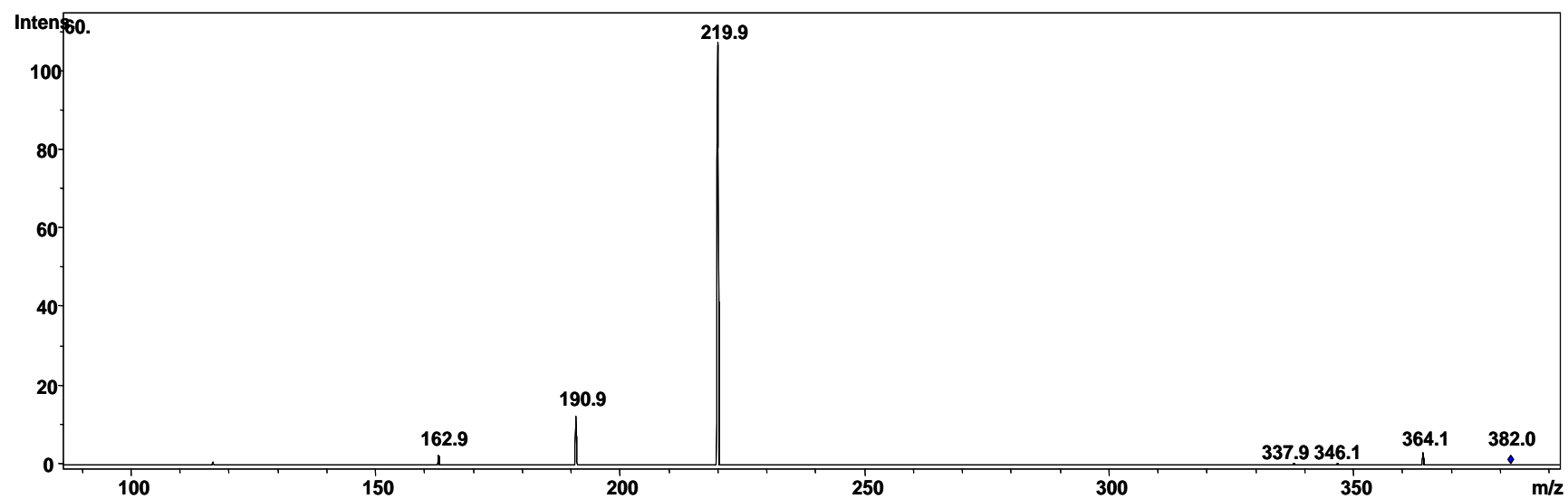
BER14GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 382$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 10

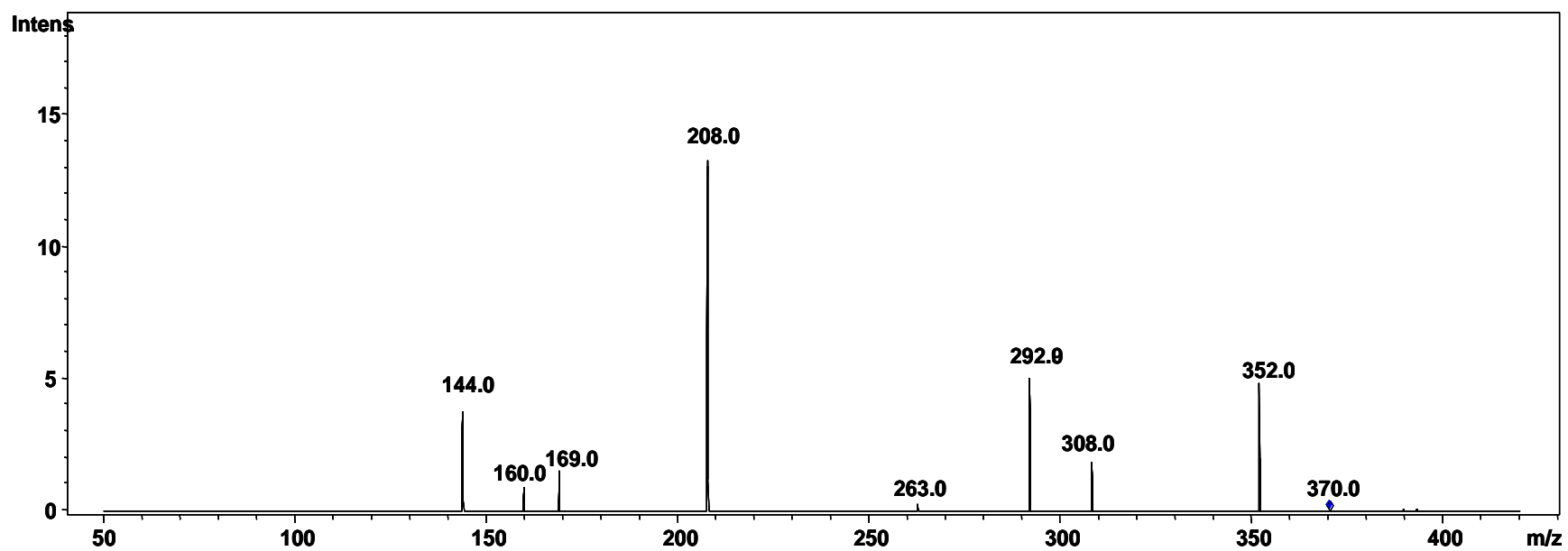
BER15GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 382$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 11

S-BER1GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 370$ )

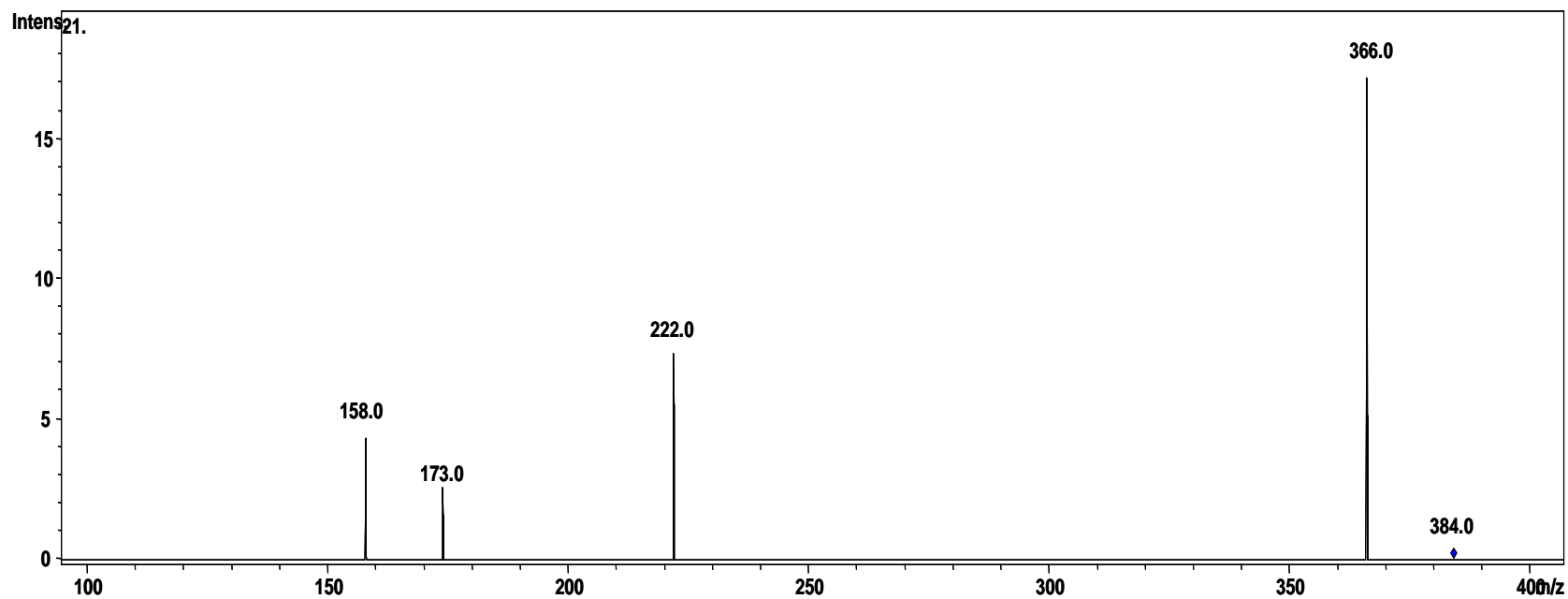


(-)ESI-IT-MS



# ANEXA 12

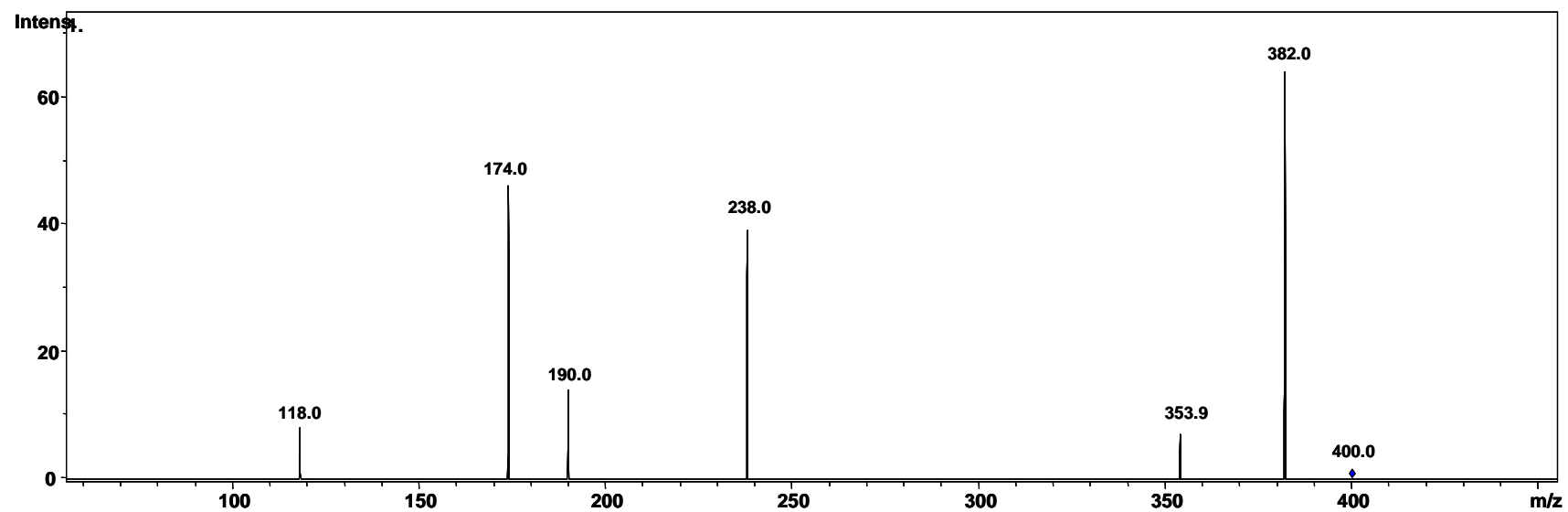
(-)-S-BER2GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 384$ )



(-)-ESI-IT-MS

# ANEXA 13

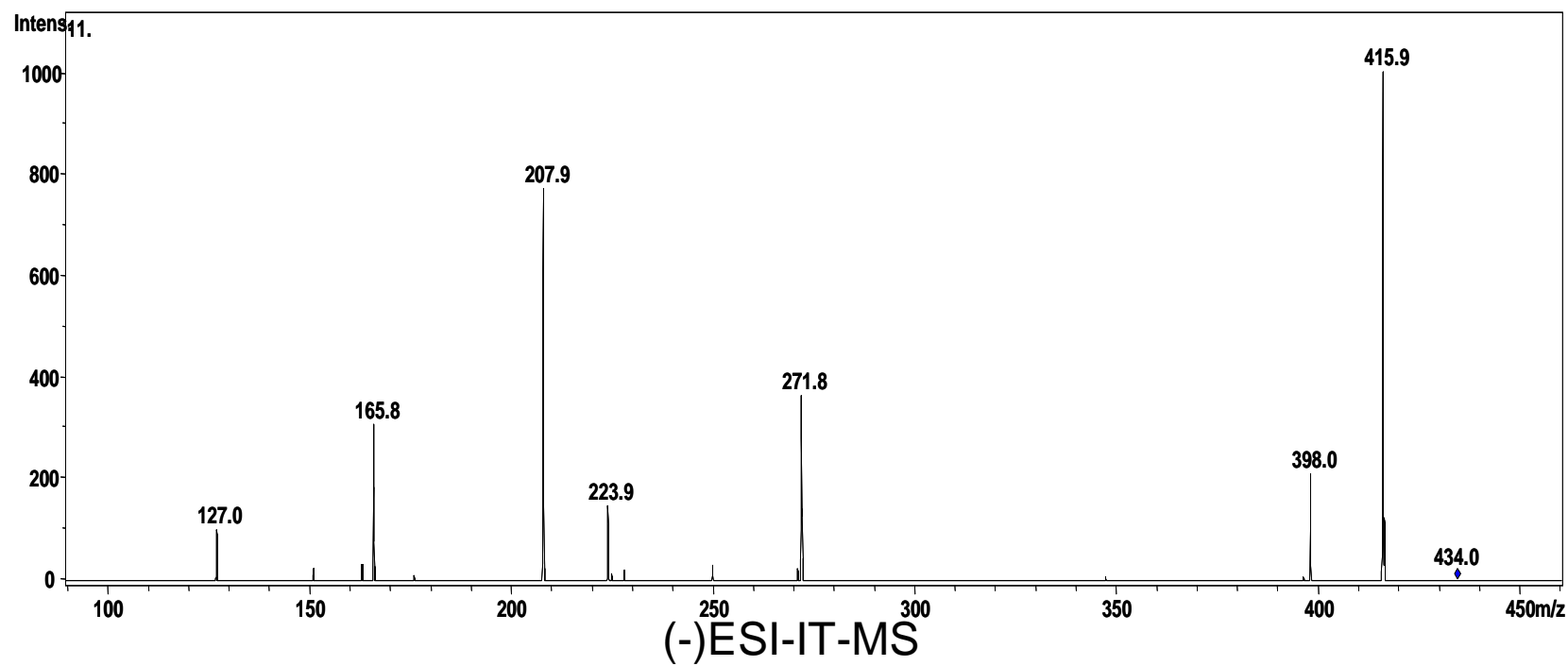
S-BER3GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 400$ )



(-)ESI-IT-MS

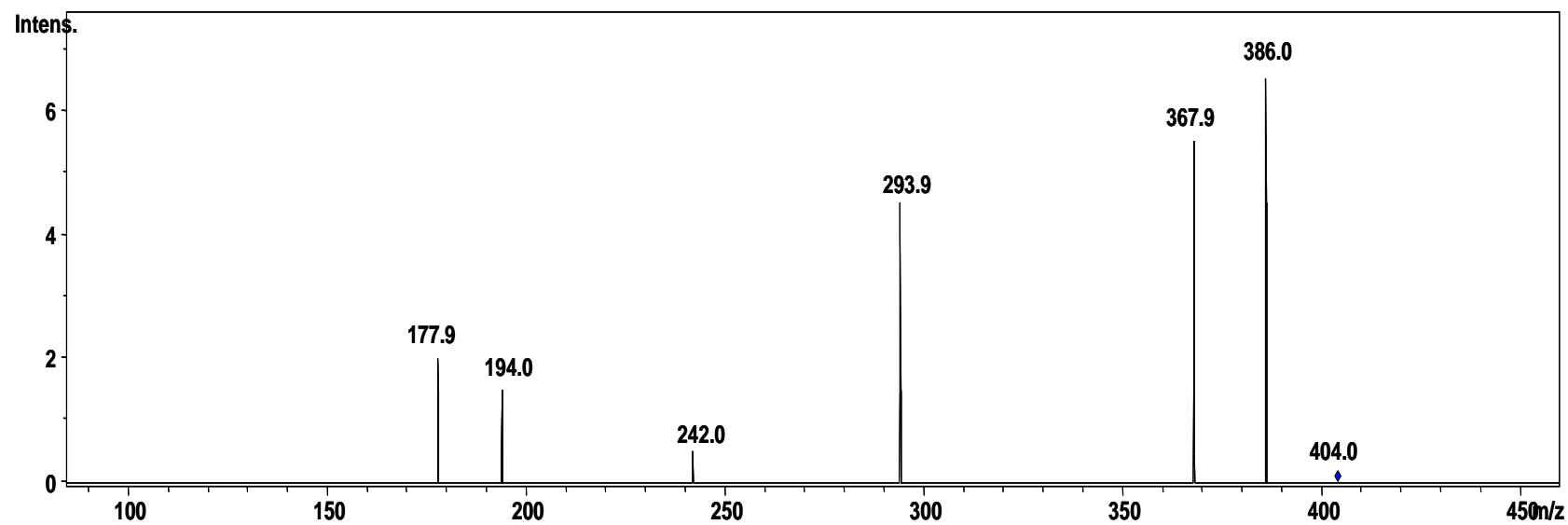
# ANEXA 14

S-BER7GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 434$ )



# ANEXA 15

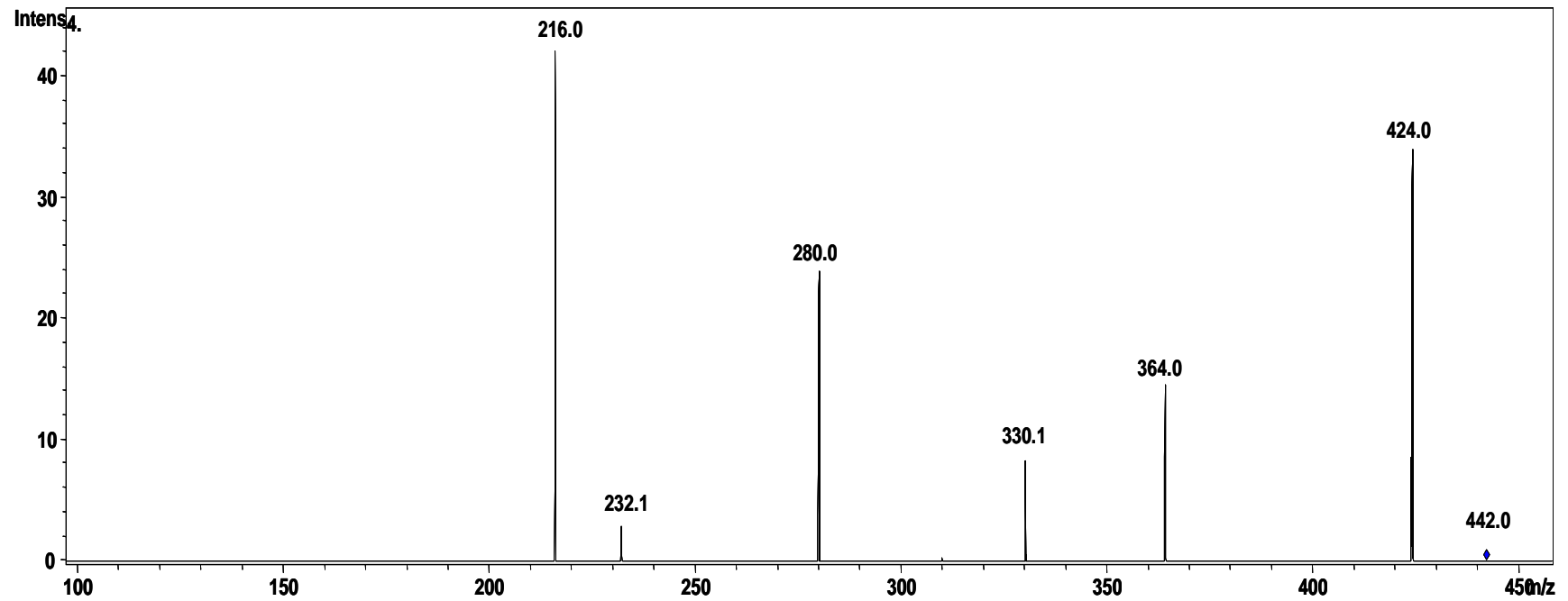
S-BER9GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 404$ )



(-)-ESI-IT-MS

# ANEXA 16

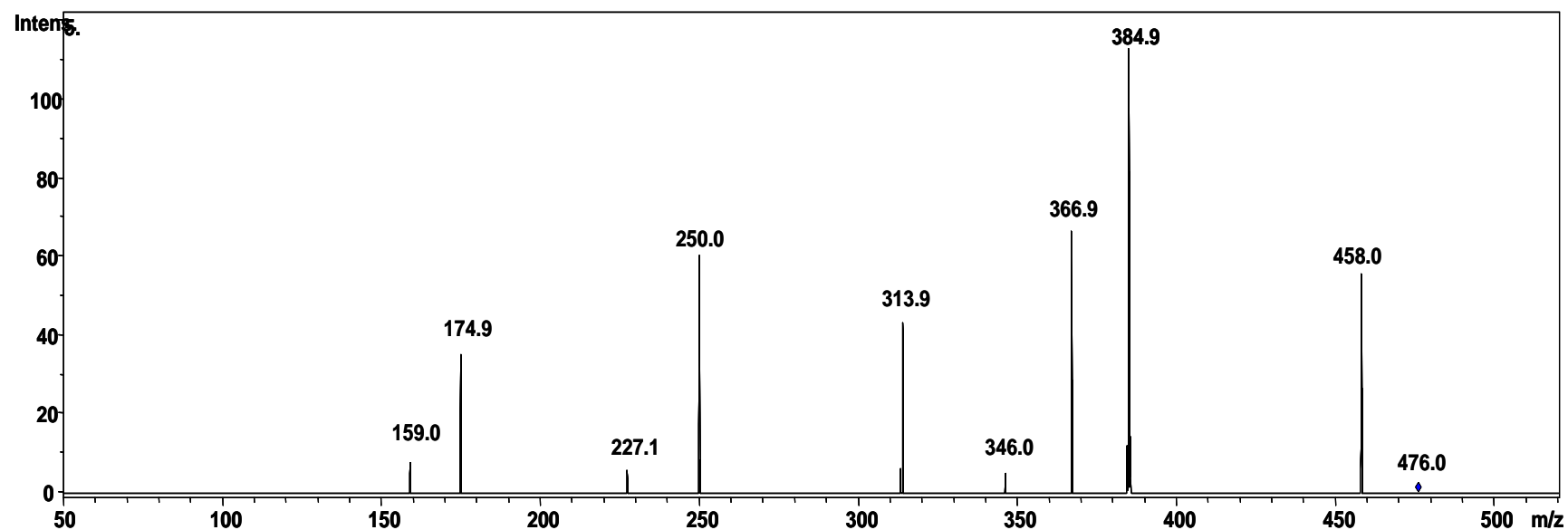
S-BER12GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 442$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 17

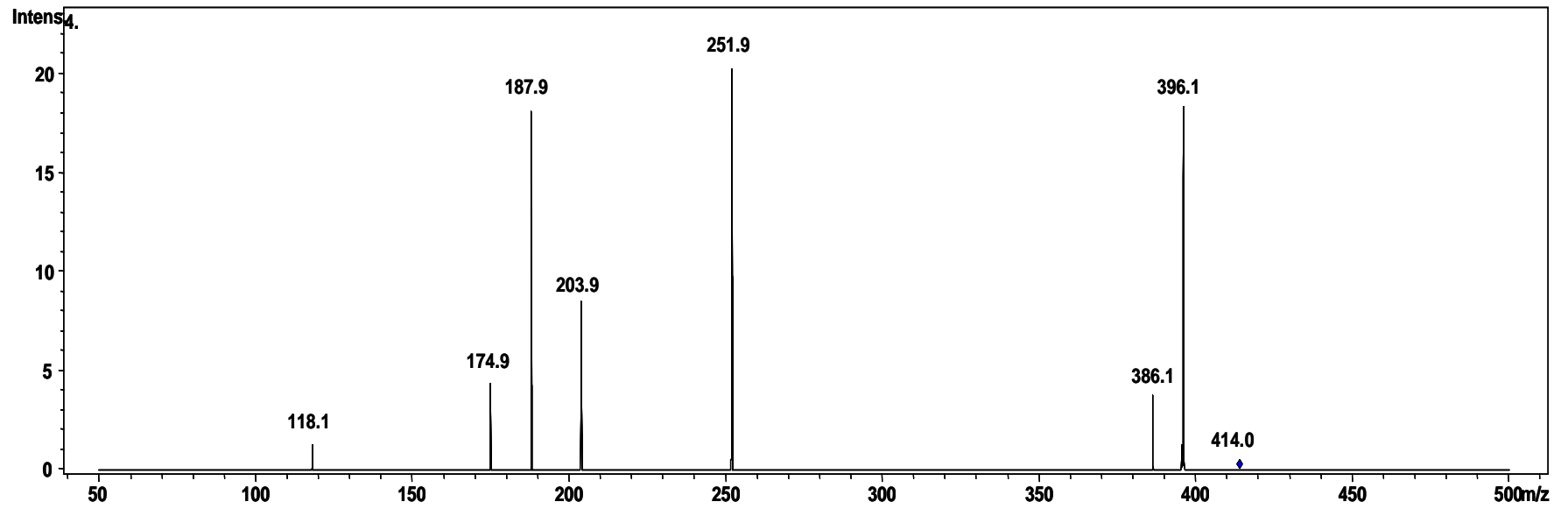
S-BER13GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 476$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 18

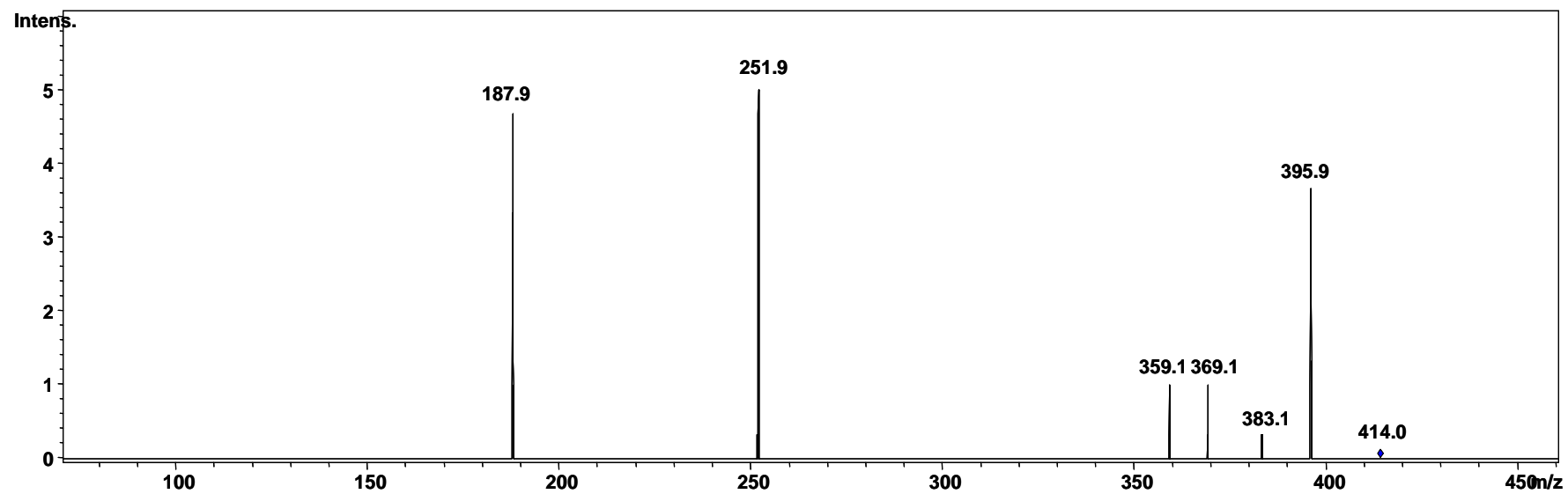
S-BER14GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 414$ )



(-)ESI-IT-MS

# ANEXA 19

S-BER15GLU Spectrul MS<sup>2</sup> ( $m/z = 414$ )



(-)ESI-IT-MS



# ANEXA 20

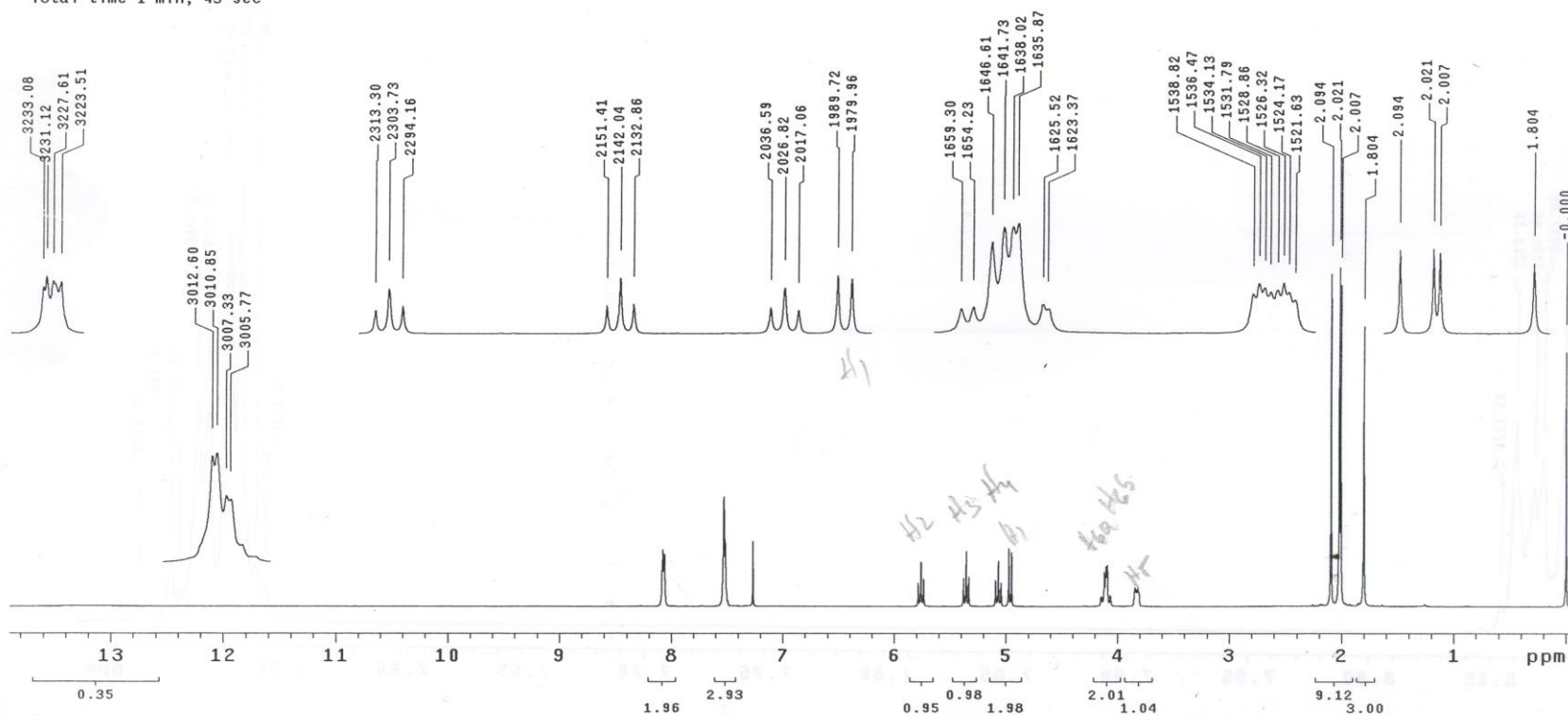
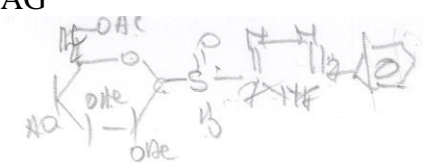
## DETALIU SPECTRUL <sup>1</sup>H-RMN AL COMPUSULUI S-BER1PAG

E. Sisu proba 2 11 nov. 2008  
Ber1PAG-sulfona

File: Proton  
Pulse Sequence: s2pul  
Solvent: cdc13  
Ambient temperature  
Operator: vnmr1  
INOVA-400 "inova400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 2.049 sec  
Width 6399.0 Hz  
32 repetitions  
OBSERVE H1, 399.9486688 MHz  
DATA PROCESSING  
FT size 65536  
Total time 1 min, 43 sec

*S-ber1-pag*



# ANEXA 21

## DETALIU SPECTRUL <sup>1</sup>H-RMN AL COMPUSULUI S-BERIPAG

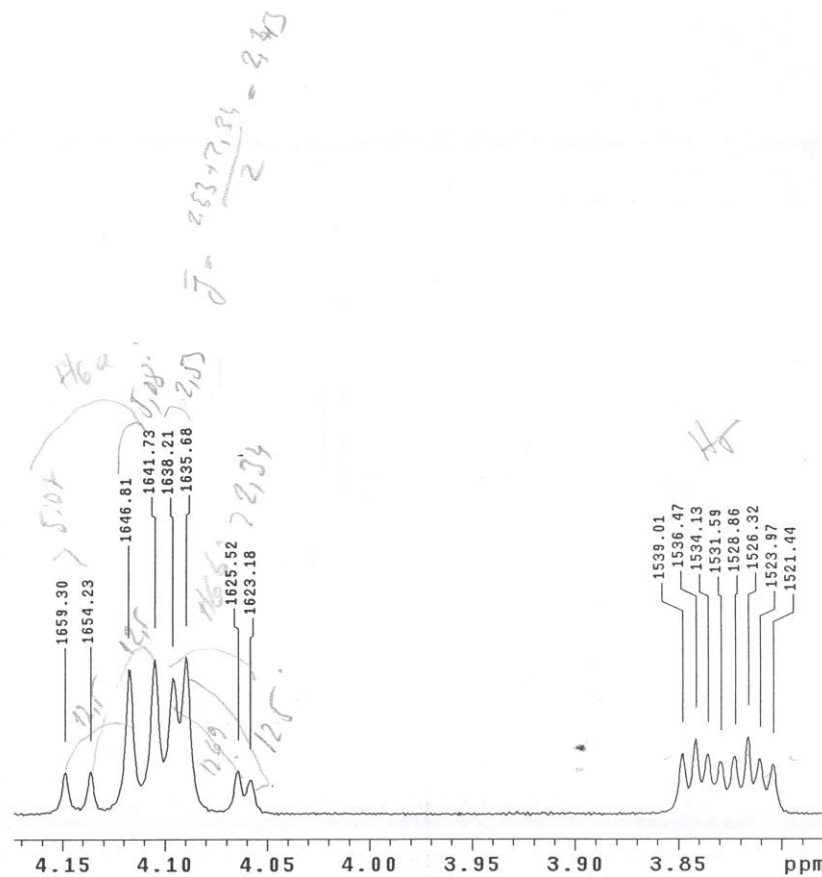
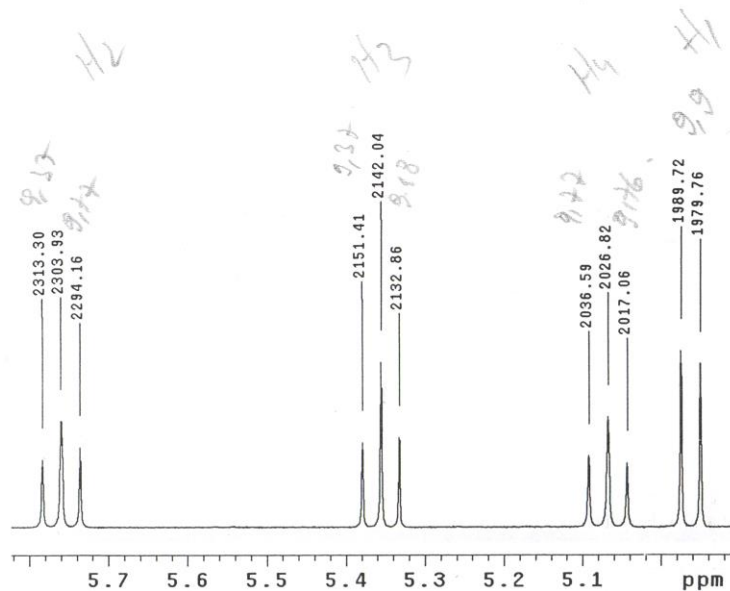
E. Sisu proba 2 11 nov. 2008  
BeripAG-sulfona

File: Proton

Pulse Sequence: s2pu1

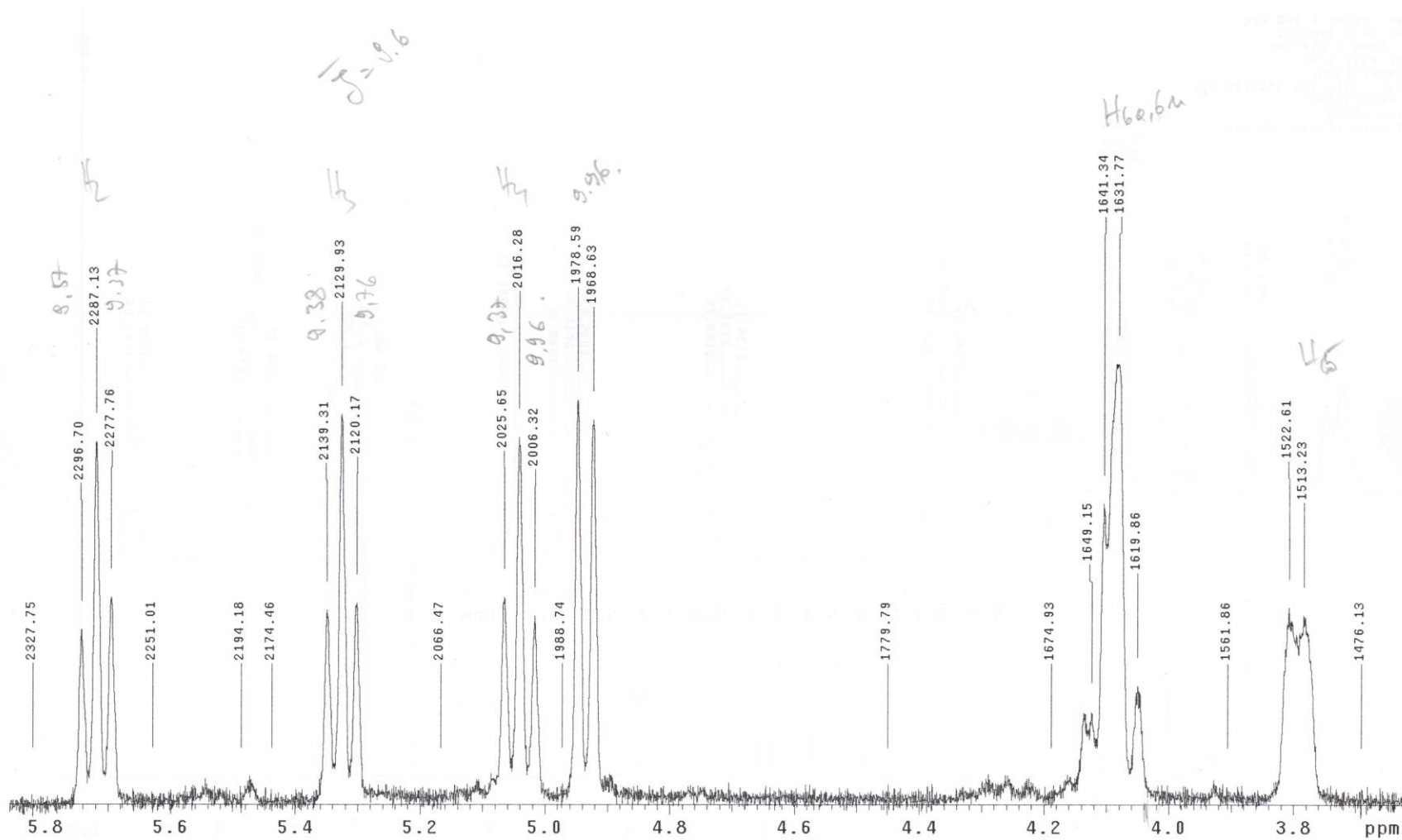
Solvent: cdc13  
Ambient temperature  
Operator: vnmr1  
INOVA-400 "inova400"

Relax. delay 1.000 sec  
Pulse 45.0 degrees  
Acq. time 2.049 sec  
Width 6399.0 Hz  
32 repetitions  
OBSERVE H1, 399.9486688 MHz  
DATA PROCESSING  
Resol. enhancement 1.6 Hz  
Gauss apodization 0.615 sec  
FT size 65536  
Total time 1 min, 43 sec



# ANEXA 22

## DETALIU SPECTRUL <sup>1</sup>H-RMN AL COMPUSULUI S-BER2PAG



# ANEXA 23

## SPECTRUL HMQC AL COMPUSULUI S-BER2PAG

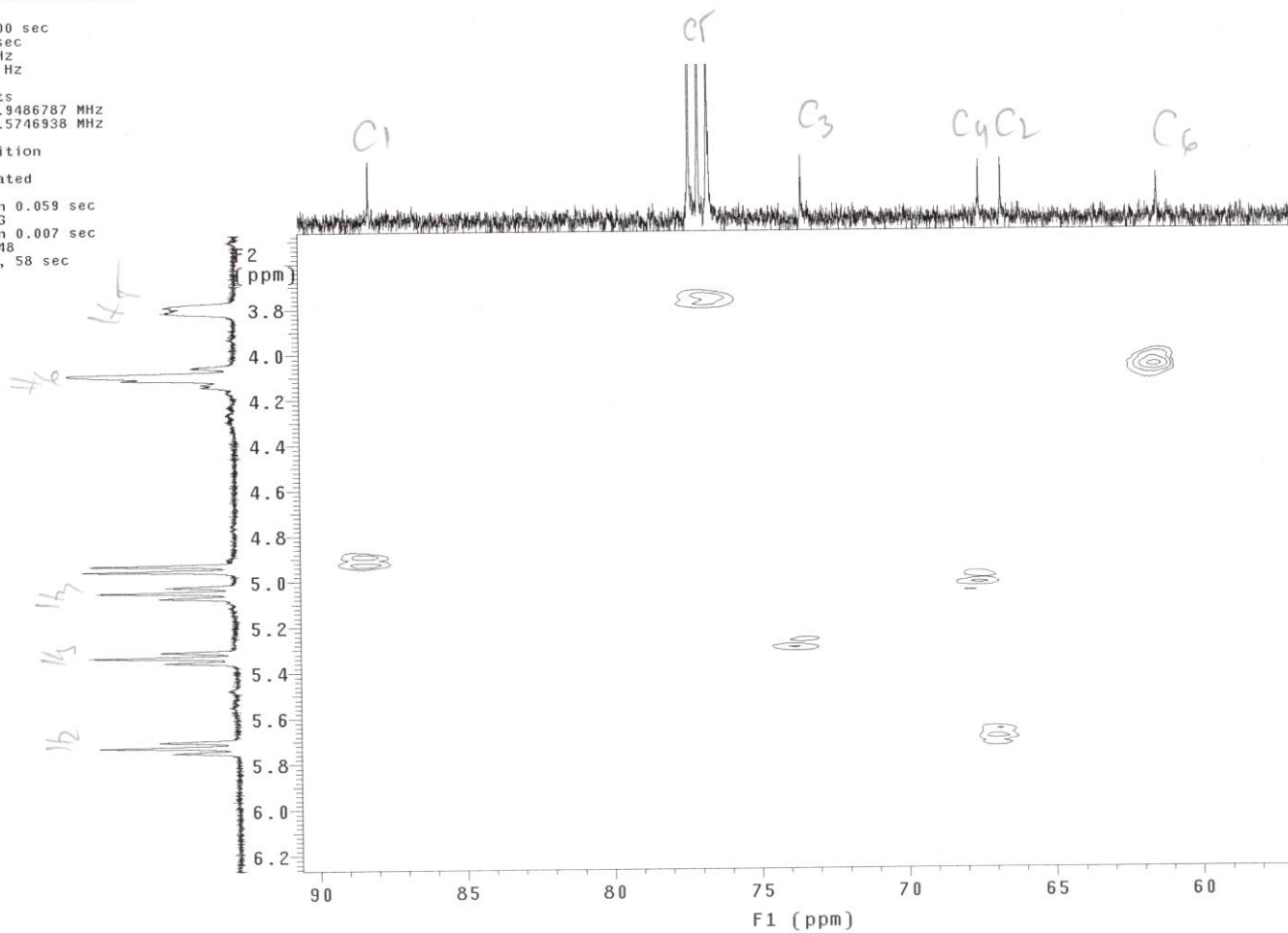
Eugen Sisu S-Ber-2-PAG  
21 mai 2009 Temp = 35 C

File: Ghmqc

Pulse Sequence: gHMOC

Solvent: cdcl3  
Temp. 35.0 C / 308.1 K  
Operator: vnmr1  
INOVA-400 "localhost.localdomain"

Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0.128 sec  
Width 3711.1 Hz  
2D Width 17097.7 Hz  
8 repetitions  
2 x 128 increments  
OBSERVE H1, 399.9486787 MHz  
DECOUPLE C13, 100.5746938 MHz  
Power 31 dB  
on during acquisition  
off during delay  
W40\_ASW\_SW modulated  
DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.059 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.007 sec  
FT size 2048 x 2048  
Total time 40 min, 58 sec



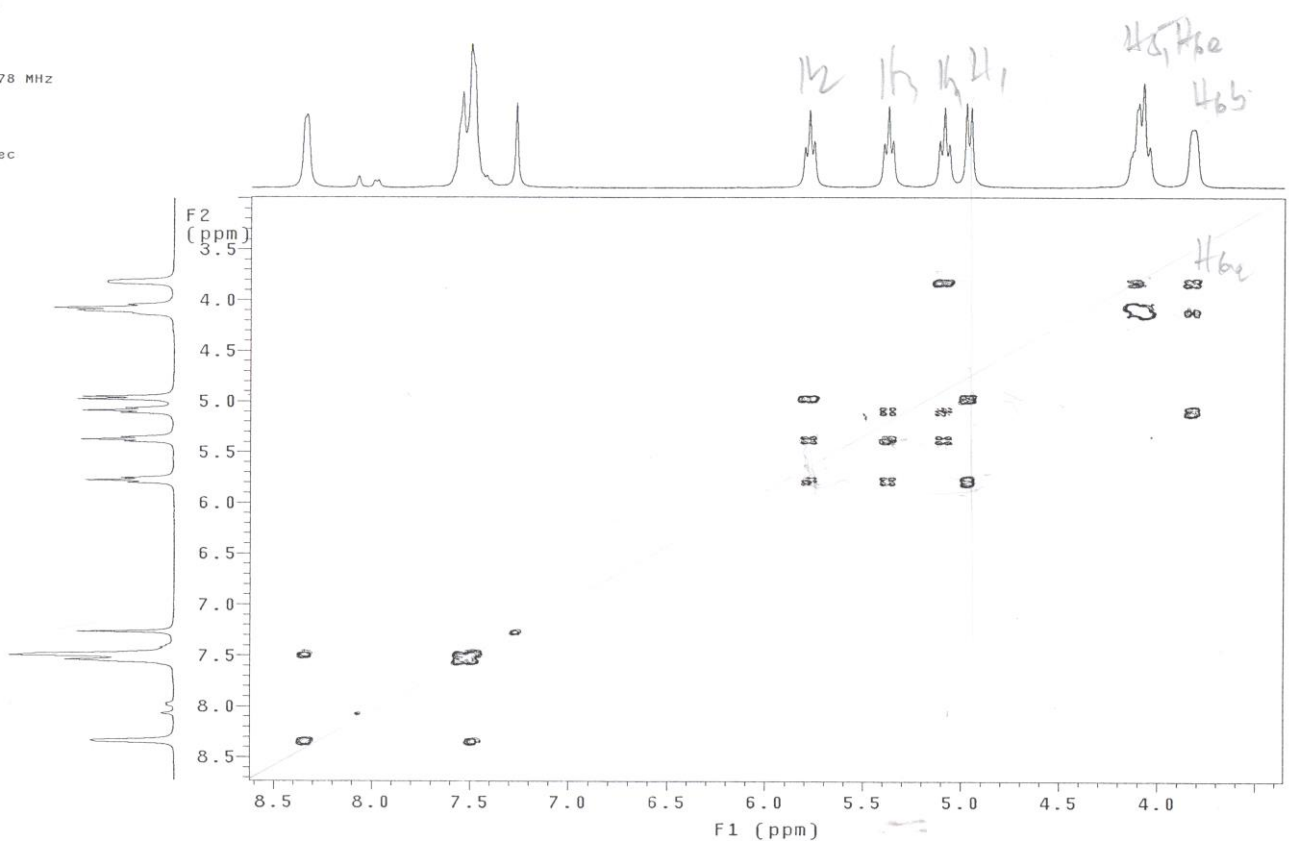
# ANEXA 24

## SPECTRUL COSY AL COMPUSULUI S-BER9PAG

Std proton  
File: gcosy  
Pulse Sequence: gcosy  
Solvent: cdc13  
Ambient temperature  
Operator: vnmr1  
INOVA-400 "inova400"  
Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0.160 sec  
Width 6399.0 Hz  
2D Width 6399.0 Hz  
4 repetitions  
512 increments  
OBSERVE H1, 399.9486678 MHz  
DATA PROCESSING  
Sine bell 0.080 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Sine bell 0.040 sec  
FT size 2048 x 2048  
Total time 41 min, 28 sec

H<sub>1</sub>  
H<sub>2</sub>  
H<sub>3</sub>  
H<sub>4</sub>

(X)



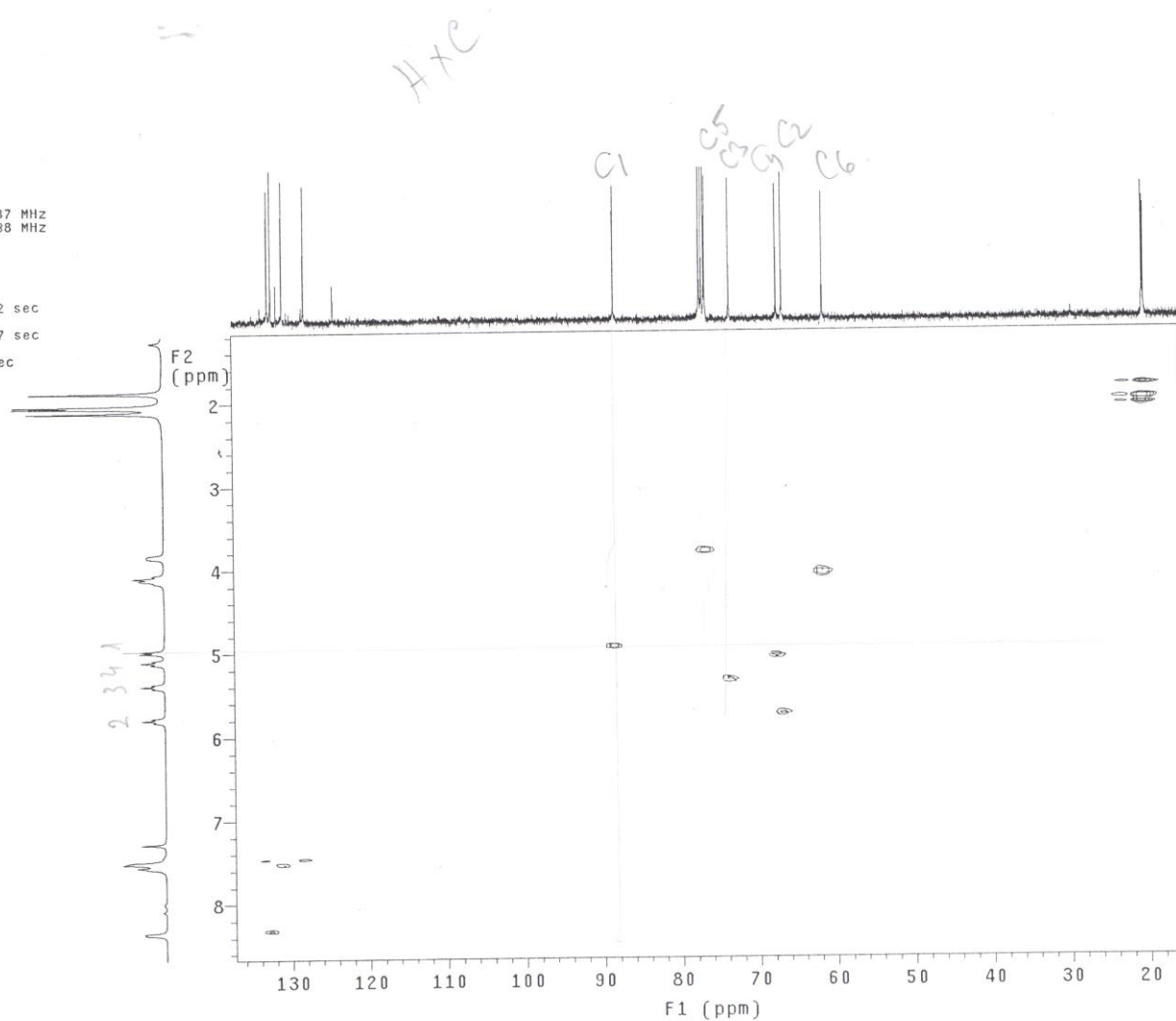
# ANEXA 25

## SPECTRUL HSQC AL COMPUSULUI S-BER9PAG

Std proton

File: Ghsqc  
Pulse Sequence: gHSQC  
Solvent: cdc13  
Ambient temperature  
Operator: vnmf1  
INOVA-400 "inova400"

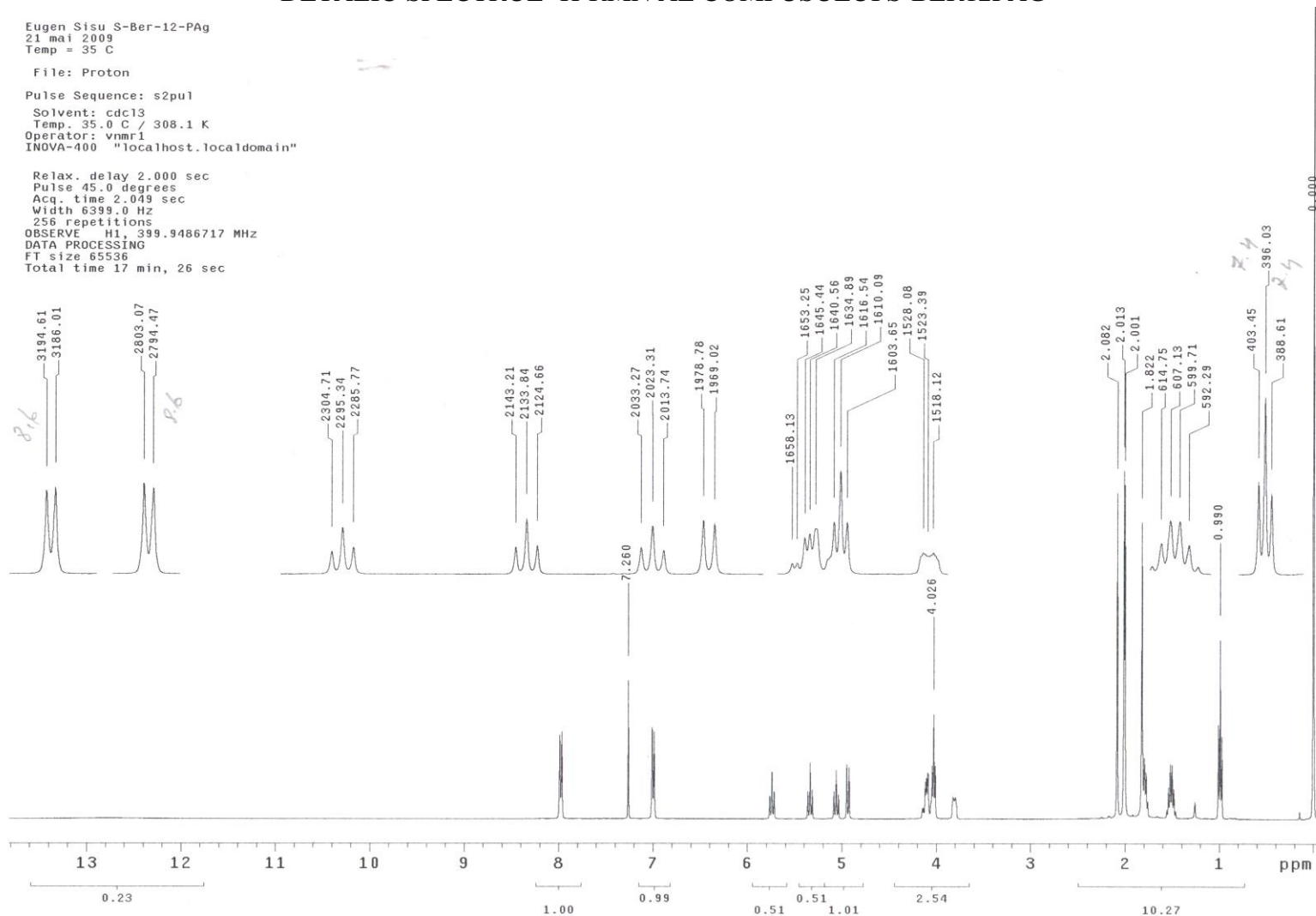
Relax. delay 1.301 sec  
Acq. time 0.199 sec  
Width 3860.3 Hz  
2D Width 17097.7 Hz  
8 repetitions  
2 x 128 increments  
OBSERVE H1, 399.9486787 MHz  
DECOUPLE C13, 100.5746938 MHz  
Power 31 dB  
on during acquisition  
off during delay  
W40\_ASW\_SW modulated  
DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.092 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.007 sec  
FT size 4096 x 2048  
Total time 53 min, 47 sec



# ANEXA 26

## DETALIU SPECTRUL <sup>1</sup>H-RMN AL COMPUSULUI S-BER12PAG

Eugen Sisu S-Ber-12-Pag  
 21 mai 2009  
 Temp = 35 C  
 File: Proton  
 Pulse Sequence: s2pu1  
 Solvent: cdc13  
 Temp. 35.0 C / 308.1 K  
 Operator: vnmr1  
 INOVA-400 "localhost.localdomain"  
 Relax. delay 2.000 sec  
 Pulse 45.0 degrees  
 Acq. time 2.049 sec  
 Width 6399.0 Hz  
 256 repetitions  
 OBSERVE H1, 399.9486717 MHz  
 DATA PROCESSING  
 FT size 65536  
 Total time 17 min, 26 sec





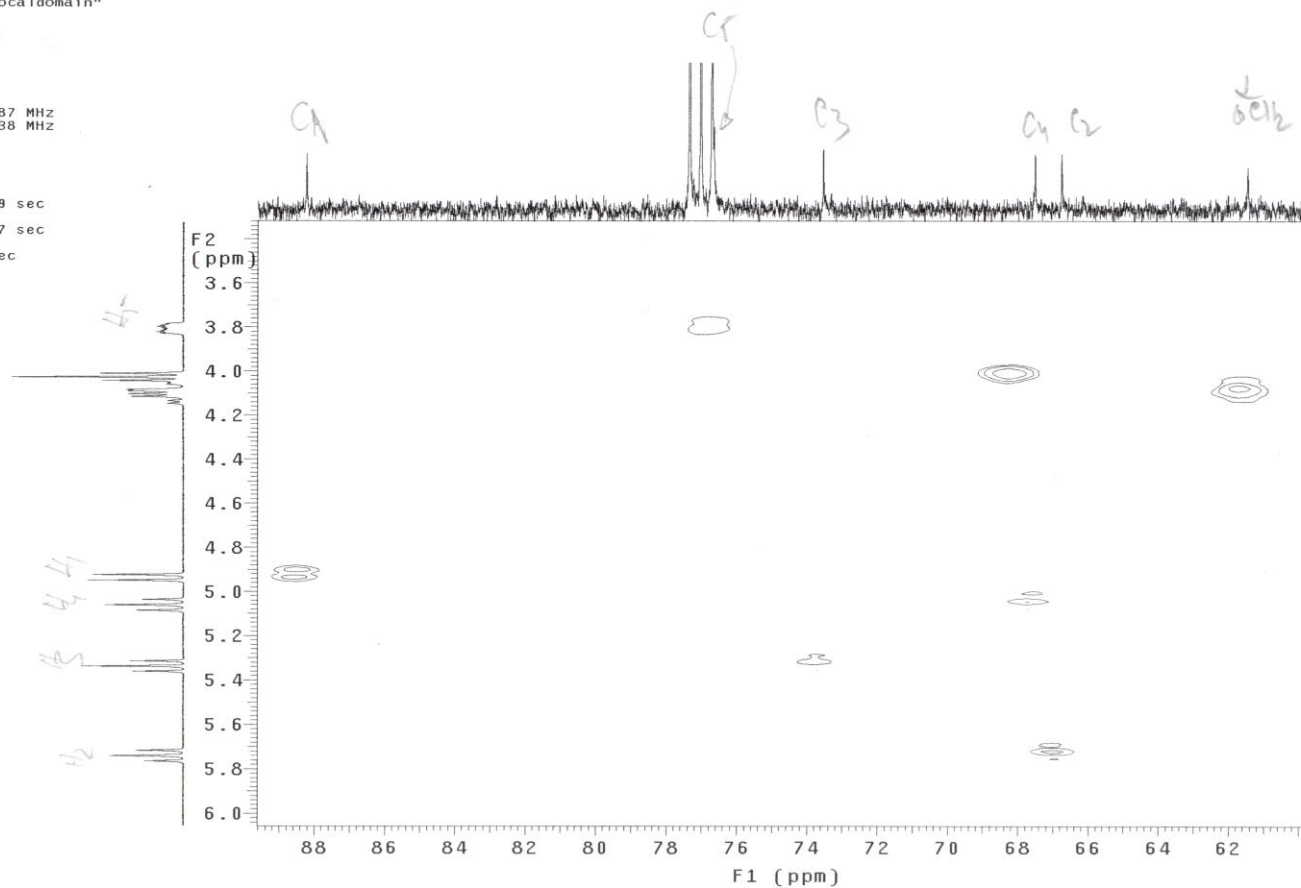


# ANEXA 28

## DETALIU SPECTRUL HMQC AL COMPUSULUI S-BER12PAG

Eugen Sisu S-Ber-12-Pag  
21 mai 2009  
Temp = 35 C  
File: Ghmqc  
Pulse Sequence: gHMOC  
Solvent: cdc13  
Temp. 35.0 C / 308.1 K  
Operator: vnmr1  
INDVA-400 "localhost.localdomain"

Relax. delay 1.000 sec  
Acq. time 0.128 sec  
Width 3546.1 Hz  
2D Width 17097.7 Hz  
8 repetitions  
2 x 128 increments  
OBSERVE H1, 399.9486787 MHz  
DECOUPLE C13, 100.5746938 MHz  
Power 31 dB  
on during acquisition  
off during delay  
W40\_ASW\_SW modulated  
DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.059 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Gauss apodization 0.007 sec  
FT size 2048 x 2048  
Total time 40 min, 58 sec





# ANEXA 30

## DETALIU SPECTRUL <sup>1</sup>H-RMN AL COMPUSULUI S-BER14PAG

E. Sisu proba 1 12 nov. 2008  
Ber14PAG-sulfona  
Ac4-G1-S02-Trz1-Ar-0Et-4

File: Proton

Pulse Sequence: s2pul

Solvent: cdc13

Ambient temperature

Operator: vnmr1

INOVA-400 "inova400"

Relax. delay 1.000 sec

Pulse 45.0 degrees

Acq. time 2.049 sec

Width 6399.0 Hz

32 repetitions

OBSERVE H1, 399.9486649 MHz

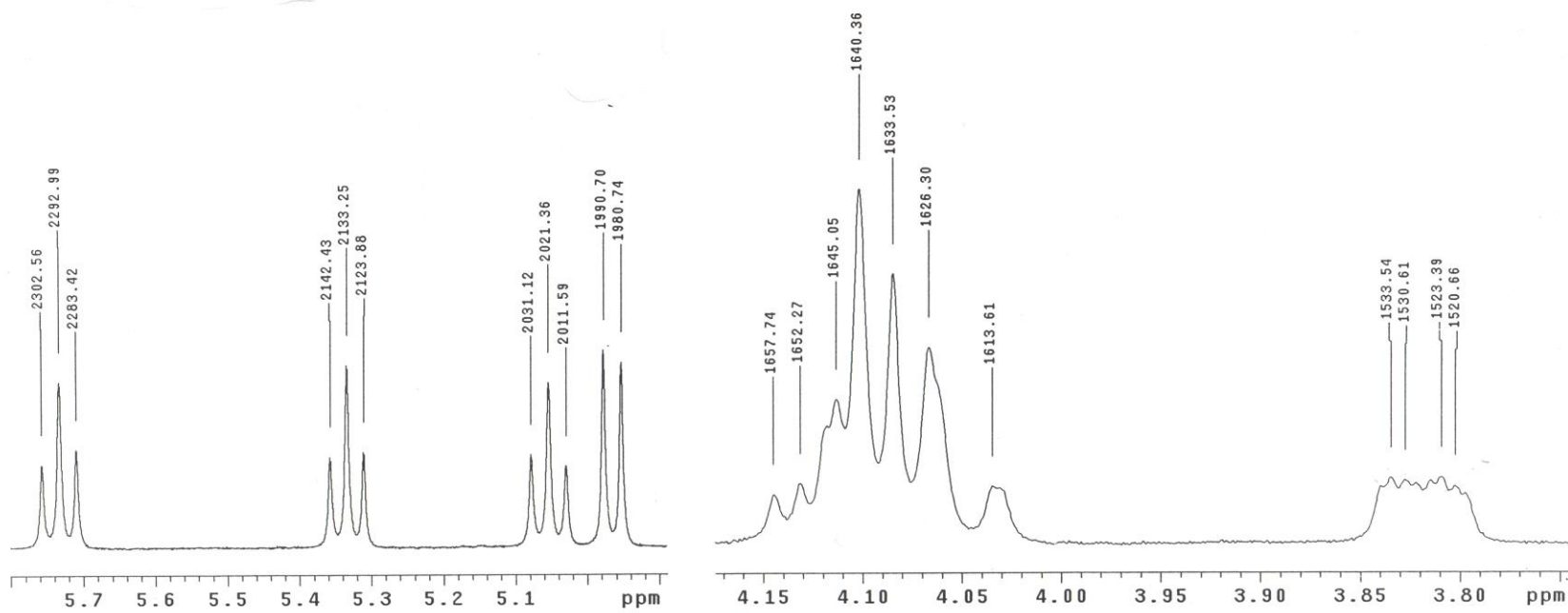
DATA PROCESSING

Resol. enhancement 1.6 Hz

Gauss apodization 0.615 sec

FT size 65536

Total time 1 min, 43 sec



# ANEXA 31

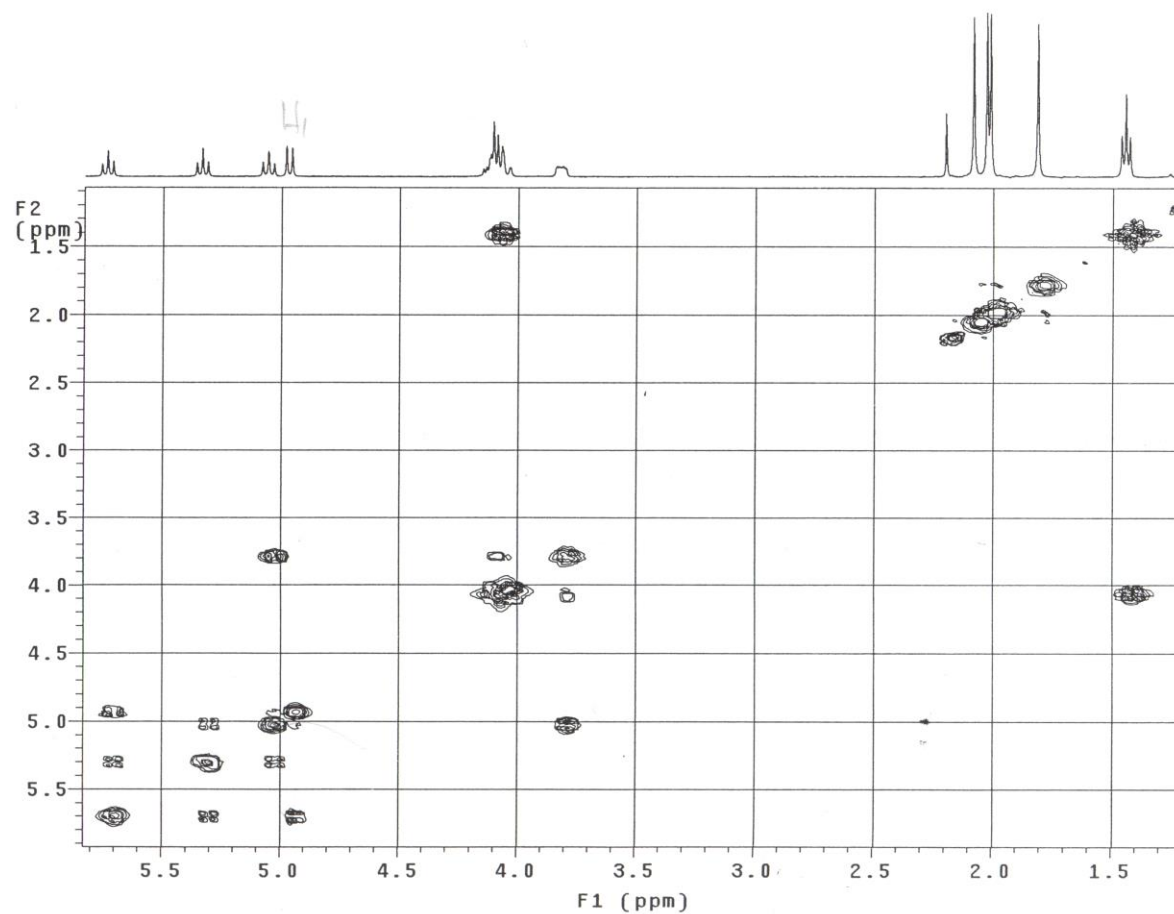
## SPECTRUL COSY AL COMPUSULUI S-BER14PAG

E. Sisu proba 1 12 nov. 2008  
Ber14FAG-sulfona  
Ac4-G1-S02-Trz1-Ar-OEt-4

File: Gcosy

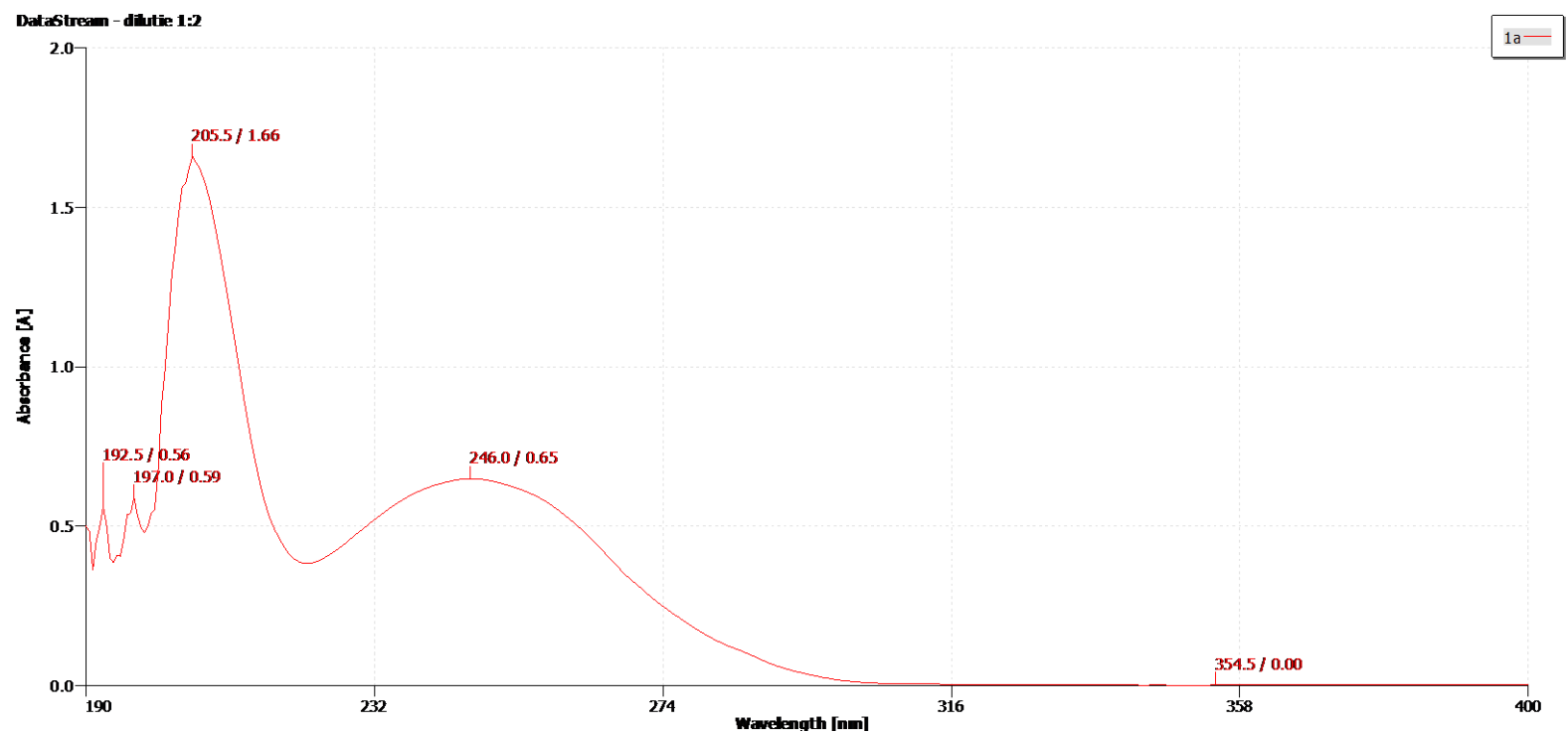
Pulse Sequence: gCOSY  
Solvent: cdcl3  
Ambient temperature  
Operator: vnmr1  
INOVA-400 "inova400"

Relax. delay 1.301 sec  
Acq. time 0.160 sec  
Width 6399.0 Hz  
2D Width 6399.0 Hz  
8 repetitions  
128 increments  
OBSERVE H1, 399.9486787 MHz  
DATA PROCESSING  
Sine bell 0.080 sec  
F1 DATA PROCESSING  
Sine bell 0.040 sec  
FT size 2048 x 2048  
Total time 25 min, 42 sec



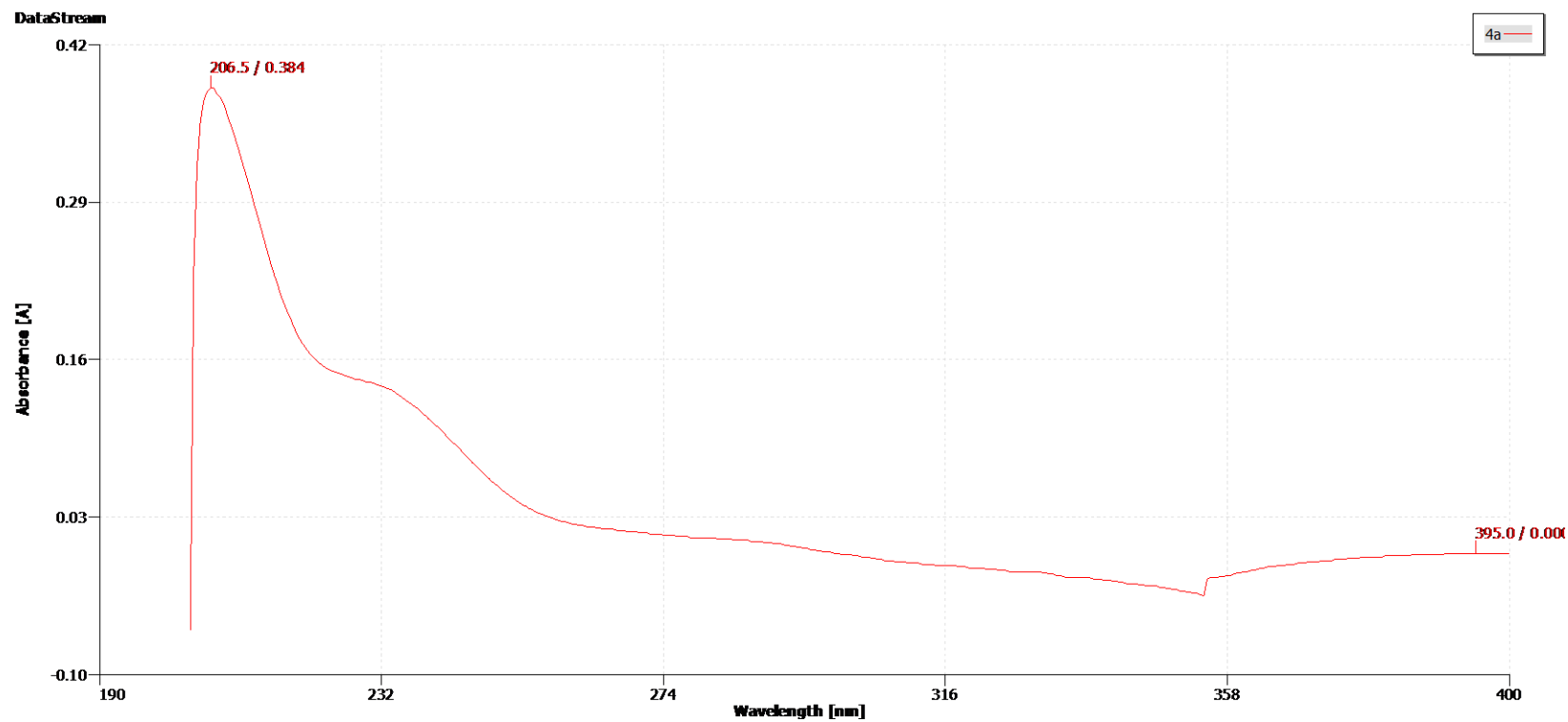
# ANEXA 32

## Spectrul UV al compusului Ber1Pag



# ANEXA 33

## Spectrul UV al compusului Ber4Pag



# ANEXA 34

## Experimente efectuate în scopul trasării curbei standardului LDH

### Experiment 1

<b>Diluții LDH</b>	<b>DO</b>				<b>medie</b>	<b>SD</b>	<b>CV %</b>	<b>Control pozitiv DO<sub>probă</sub>-DO<sub>fond</sub></b>
<b>1/8</b>	<b>0.200</b>	<b>0.194</b>	<b>0.194</b>	<b>0.198</b>	<b>0.197</b>	0.003	2	<b>0.163</b>
<b>1/4</b>	<b>0.364</b>	<b>0.342</b>	<b>0.351</b>	<b>0.361</b>	<b>0.355</b>	0.010	3	<b>0.321</b>
<b>1/2</b>	<b>0.665</b>	<b>0.657</b>	<b>0.588</b>	<b>0.605</b>	<b>0.629</b>	0.038	6	<b>0.596</b>
<b>1/1</b>	<b>1.162</b>	<b>1.135</b>	<b>1.088</b>	<b>1.113</b>	<b>1.128</b>	0.037	3	<b>1.095</b>
<b>fond (PBS +1% BSA)</b>	<b>0.037</b>	<b>0.033</b>	<b>0.031</b>	<b>0.032</b>	<b>0.033</b>			

### Experiment 2

<b>Diluții LDH</b>	<b>DO</b>				<b>medie</b>	<b>SD</b>	<b>CV %</b>	<b>Control pozitiv DO<sub>probă</sub>-DO<sub>fond</sub></b>
<b>1/8</b>	<b>0.209</b>	<b>0.204</b>	<b>0.209</b>	<b>0.211</b>	<b>0.208</b>	0.003	1	<b>0.175</b>
<b>1/4</b>	<b>0.380</b>	<b>0.370</b>	<b>0.372</b>	<b>0.386</b>	<b>0.377</b>	0.007	2	<b>0.344</b>
<b>1/2</b>	<b>0.670</b>	<b>0.687</b>	<b>0.686</b>	<b>0.672</b>	<b>0.679</b>	0.009	1	<b>0.646</b>
<b>1/1</b>	<b>1.150</b>	<b>1.777</b>	<b>1.201</b>	<b>1.228</b>	<b>1.339</b>	0.294	22	<b>1.306</b>
<b>fond (PBS +1% BSA)</b>	<b>0.037</b>	<b>0.033</b>	<b>0.031</b>	<b>0.032</b>	<b>0.033</b>			

## ANEXA 34

### Experimente efectuate în scopul trasării curbei standardului LDH

#### Experiment 3

Diluții LDH	DO				medie	SD	CV %	Control pozitiv DO <sub>probă</sub> -DO <sub>fond</sub>
<b>1/8</b>	<b>0.226</b>	<b>0.232</b>	<b>0.225</b>	<b>0.220</b>	<b>0.226</b>	0.005	2	<b>0.186</b>
<b>1/4</b>	<b>0.374</b>	<b>0.368</b>	<b>0.409</b>	<b>0.381</b>	<b>0.383</b>	0.018	5	<b>0.344</b>
<b>1/2</b>	<b>0.680</b>	<b>0.688</b>	<b>0.692</b>	<b>0.664</b>	<b>0.681</b>	0.012	2	<b>0.642</b>
<b>1/1</b>	<b>1.147</b>	<b>1.246</b>	<b>1.123</b>	<b>1.266</b>	<b>1.196</b>	0.071	6	<b>1.156</b>
fond (PBS +1% BSA)	<b>0.040</b>	<b>0.075</b>	<b>0.024</b>	<b>0.019</b>	<b>0.040</b>			

#### Experiment 4

Diluții LDH	DO				medie	SD	CV %	Control pozitiv DO <sub>probă</sub> -DO <sub>fond</sub>
<b>1/8</b>	<b>0.276</b>	<b>0.267</b>	<b>0.269</b>	<b>0.272</b>	<b>0.271</b>	0.004	1	<b>0.201</b>
<b>1/4</b>	<b>0.438</b>	<b>0.432</b>	<b>0.433</b>	<b>0.406</b>	<b>0.427</b>	0.014	3	<b>0.357</b>
<b>1/2</b>	<b>0.734</b>	<b>0.770</b>	<b>0.773</b>	<b>0.748</b>	<b>0.756</b>	0.019	3	<b>0.686</b>
<b>1/1</b>	<b>1.330</b>	<b>1.416</b>	<b>1.388</b>	<b>1.443</b>	<b>1.394</b>	0.048	4	<b>1.324</b>
fond (PBS +1% BSA)	<b>0.071</b>	<b>0.071</b>	<b>0.073</b>	<b>0.065</b>	<b>0.070</b>			