



**Organic Chemistry Department
Babes-Bolyai University
Cluj-Napoca, 400028
ROMANIA**

Teza de Doctorat

Anca Cristina Petran

**Coordonator stiintific
Prof. Dr. ION GROSU**

**Cluj-Napoca
Martie 2012**



**Organic Chemistry Department
Babes-Bolyai University
Cluj-Napoca, 400028
ROMANIA**

**Sinteza, Structura si Proprietatile Unor Noi
Compusi Macrociclici
si
Noi Unitati Lipidice Functionalizate
Pentru Aplicatii in Biofizica**

**Coordonator stiintific
Prof. Dr. ION GROSU**

Martie 2012

Cuvinte cheie:

Cuplare Suzuki

Macroцили

Rotaxani

Colesterol-nucleozide,-nucleobaze

Lipide amfilice

Microtuburi lipidice

Nanotransportori



**Organic Chemistry Department
Babes-Bolyai University
Cluj-Napoca, 400028
ROMANIA**

Juriu:

Conducator stiintific	Prof. Dr. Ion GROSU	Universitatea Babes Bolyai Cluj- Napoca, Romania
Presedinte	Conf. Dr. Ing. Luminita DAVID	Universitatea Babes-Bolyai Cluj- Napoca, Romania
Referent	Prof. Dr. Jürgen LIEBSCHER	Universitatea Humboldt Berlin, Germany
Referent	Prof. Dr. Cristian SILVESTRU	Universitatea Babes-Bolyai Cluj- Napoca, Romania
Referent	Prof. Dr. Ionel MANGALAGIU	Universitatea Al. I. Cuza Iasi, Romania

Martie 2012

Cuprins:

Mulumiri

Lista de abrevieri

1. Sinteza, Structura si Proprietatile Unor Noi Compusi Macro ciclici	7
1.1. Referinte Generale Despre Chimia Supramoleculara	8
1.2. Noi Abordari in Sinteza Macro ciclurilor Prin Reactie de Cuplare Suzuki	10
1.2.1. Referinte Generale Despre Derivatii de Tiofen si Fenotiazina	10
1.2.2. Referinte Generale Despre Reactia de Cuplare Suzuki	13
1.2.3. Obiective	16
1.2.4. Rezultate si Discutii	18
1.2.4.1. Sinteza Precursorilor	18
1.2.4.2. Sinteza Macro ciclurilor	25
1.2.5. Concluzii	34
1.3. Macro ciclulii cu Posibile Aplicatii in Sinteza Rotaxanilor	35
1.3.1. Referinte Generale Despre Rotaxani	35
1.3.2. Stabilitatea si Componentele Pseudorotaxanilor	36
1.3.3. Tipologii de Sinteza a Rotaxanilor	38
1.3.4. Obiective	40
1.3.5. Rezultate si Discutii	42
1.3.5.1. Sinteza axelilor	42
1.3.5.2. Sinteza macro ciclurilor	47
1.3.5.3. Sinteza precursorului de "stopper"	60
1.3.5.4. Formarea pseudorotaxanilor si rotaxanilor	60
1.3.6. Concluzii	66
1.3.7. Parte Experimentală	67
1.3.7.1. Indicatii generale	67
1.3.7.2. Sinteza si caracterizarea compusilor	67
2. Noi Unitati Lipidice Functionalizate Pentru Aplicatii in Biofizica	94
2.1. Referinte Generale Despre Membranele Lipidice	95
2.2. Nucleozide Colesterol-Modificate ca Precursori Pentru Auto-Asamblarea Microtuburilor	98
2.2.1. Referinte Generale Despre Nanotuburi	98
2.2.2. Obiective	102
2.2.3. Rezultate si Discutii	103
2.2.4. Concluzii	118

2.3. Sinteza Unor Noi Derivati Amfifilici cu Functie de Recunoastere Biologica in Vederea Obtinerii Unor Sisteme Lipozomale Specifice de Transport.....	119
2.3.1. Referinte Generale Despre Transportul Medicamentelor	119
2.3.2. Obiective	123
2.3.3. Rezultate si Discutii	125
2.3.4. Concluzii	130
2.4. Parte Experimentală	131
2.4.1. Indicatii Generale	131
2.4.2. Sinteza si Caracterizarea Compusilor	131
3. Concluzii Generale	150
Lista Compusilor Noi.....	152
Lista Publicatiilor	158

Sinteza, Structura si Proprietatile Unor Noi Compusi Macro ciclici



Cuvinte cheie:

Cuplare Suzuki
Macro cicli
Rotaxani

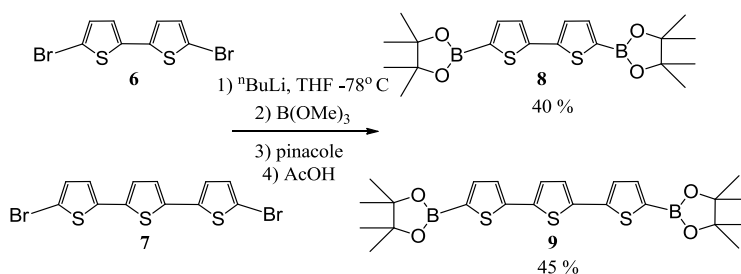
1.2. Noi Abordari in Sinteza Macroцициilor Prin Reactii de Cuplare Suzuki

1.2.4. Rezultate si Discutii

1.2.4.1. Sinteza precursorilor

Scopul acestui capitol a fost sinteza de noi compusi macroцициlici printr-o reactie intermoleculara de cuplare Suzuki. Pentru sinteza macroцициilor tinta am folosit diverse conditii de reactie (substrat, baza sau solvent) pentru a identifica cea mai optima metoda de macroциclizare. Pentru prima data s-a folosit metoda one-pot de macroциclizare, in care reactia de litiere si cuplare au fost efectuate *in situ*.

Sinteza macroцициilor a pornit de la precursorii acestora. Acesti precursori au fost derivati de bitiofen, tertiofen si tiofen-fenotiazina. Primii precursori sintetizati au fost derivati de bi- si ter-tiofen. Bitiofenul **4** si tertiofenul **5** au fost sintetizati printr-o reactie de cuplare Kumada, iar apoi au fost bromurati in vederea obtinerii derivatilor dibromurati **6** si **8**. Derivatii dibromurati de bitiofen si tertiofen au fost utilizati mai departe intr-o reactie de litiere facand un schimb brom-litiu. Dupa acest pas a urmat aditia electofilului trimetilborat¹. Pentru o mai buna stabilitate si pentru evitarea foto-deborilari, derivatul metil boronic a fost conertit in situ la esterul boronic corespunzator², schema 5.

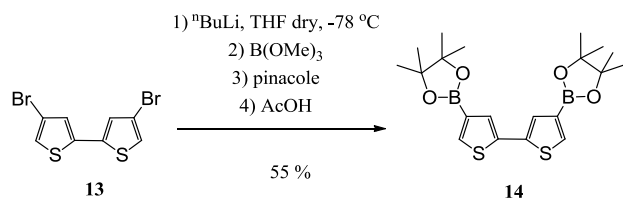


Schema 5.

Un alt derivat de bitiofen pe care am dorit sa il utilizam ca si structura rigida in reactiie de macroциclizare a fost 4,4'-dibromo-2,2'-tiofen, care a fost transformat in esterul bis-pinacol boronic **14**, schema 7.

¹C. Krämer, T. J. Zimmermann, M. Sailer, T. J. J. Müller *Synthesis* **2002**, 9, 1163.

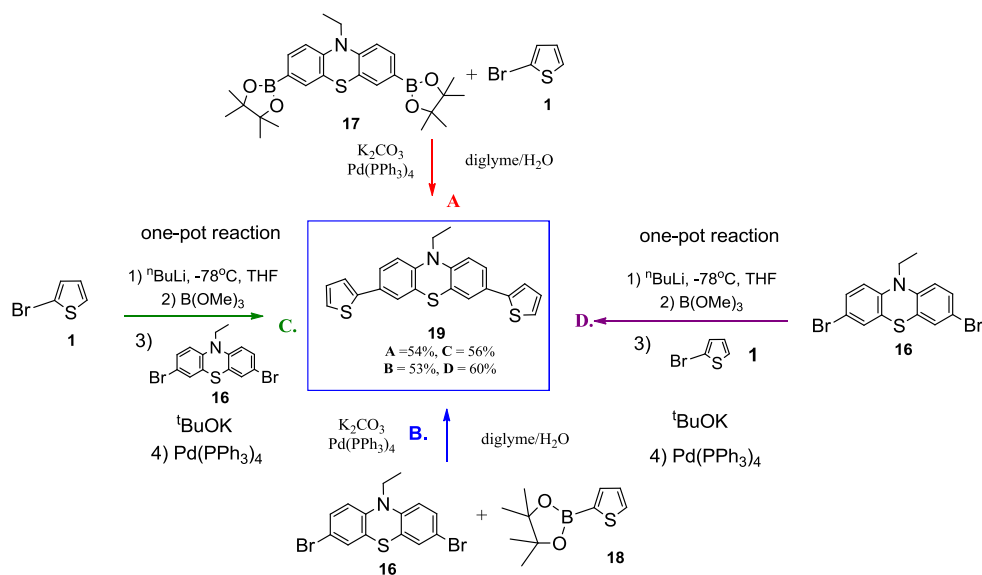
²R. W. Hoffmann, S. Dresely *Synthesis* **1998**, 103.



Schema 7.

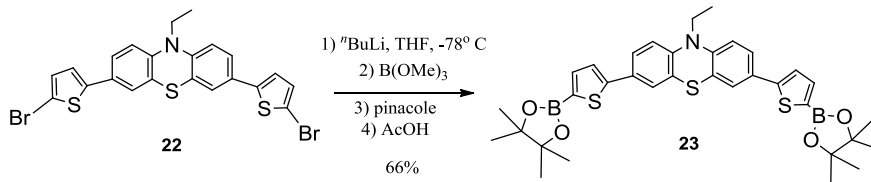
In reactiile de macrociclizare Suzuki a fost utilizat un derivat tiofen-fenotiazinic, pentru a vedea daca dimensiunea sau planaritatea unitatii centrale poate influenta inchiderea ciclului. Pentru aceasta am folosit ca si unitate centrala planara si rigida fenotiazina.

3,7-Dibromo-10-etil-10H-fenotiazina **16** si 2-bomotiofenul **1** au fost transformatii in esteri boronici corespunzatori **17** si **18**. Un precursor important pentru diferiti compusi tinta este 10-etil-3,7-di(thien-2-yl)-10H-fenotiazina (derivatul **19**), care a fost sintetizat prin patru cai, reactie clasica de cuplare Suzuki, reactia dintre un ester boronic si un derivat bromurat (metodele **A** si **B**) si prin metoda one-pot in care derivatul borat a fost generat in situ, urmat de cuplarea Suzuki (metodele **C** si **D**), schema 10.



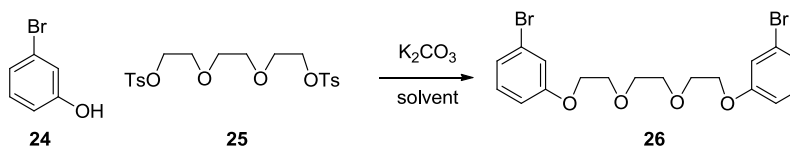
Schema 10.

Derivatul **19** a fost transformat printr-o reactie de bromurare cu NBS in 3,7-bis(5-bromotiofen-2-yl)-10-etil-10H-fenotiazina **22** care a fost transformat in esterul pinacolico corespunzator **23**, schema 13.



Schema 13.

Pentru reactia de macrociclizare abordata am avut nevoie de o unitate flexibila. Aceasta unitate contine un lanx de n-etilen glicol si meta-bromofenol la capetele terminale. Aceasta reactie a fost efectuata in mai multi solventi^{3,4,5}. Reactia dintre trietilen glicolul **25** si 3-bromofenolul **24**, folosind carbonat de potasiu ca baza, a dus la formarea 1,2-bis(2-(3-bromofenoxi)etoxi)etanul **26**, schema 14. Reactia a fost investigata in patru solventi (isopropanol, DMF, acetona si acetonitril), randamentele cele mai buna au fost obtinute in acetonitril. Printr-o procedura similara folosind acetonitril ca solvent am sintetizat 3,3'-(((oxibis(etane-2,1-diyl))bis(oxi))bis(etane-2,1-diyl))bis(oxi))bis(bromobenzene) ,derivatul **28**.



Schema 14.

1.2.4.2. Sinteza macrociclorilor

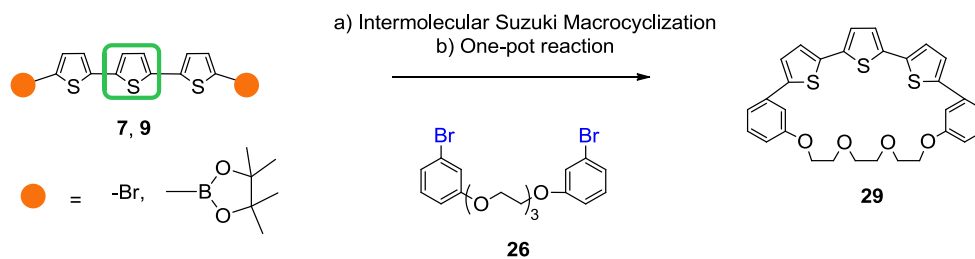
In sinteza macrociclorilor prin cuplare Suzuki am folosit unitatile rigide (**6**, **7**, **8**, **9**, **13**, **14**, **22**, **23**) iar ca unitate flexibila dibromo-derivati **26** si **28**. Pentru toate acetse reactii s-a folosit catalizatorul Pd(PPh₃)₄, tetrakis(trifenilfosfina)palladium(0).

Pentru macrociclorul **29** au fost incercate diverse conditii de reactie (amestec de solvent sau baza). S-au folosit trei metode diferite de utilizare a solventilor sau bazei utilizand metoda clasica de macrociclizare Suzuki, reactie dintre derivat de ester boronic si derivat bromurat. Alte doua metode ca reactii one-pot in situ au fost studiate, schema 17. Bazele folosite pentru reactia de cuplare au fost Cs₂CO₃ sau K₂CO₃ iar solventii folositi au fost amestecuri de diglim : apa si DMF : apa. Pentru reactiile one-pot s-a folosit THF ca solvent si ^tBuOK sau Cs₂CO₃ ca baza, randamentele reactiilor pt metoda one-pot au fost mai mici decat ne asteptam.

³ H.-Y. Kim, W.-J. Lee, H.-M. Kang C.-G. Cho *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3185.

⁴ L. Sheeney-Haj-Ichia, I. Willner *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 13094.

⁵ S. J. Rowan, J. F. Stoddart *Org. Lett.* **1999**, *1*, 1913.



Schema 17.

Rezultatele pentru reactia de macrociclizare a compusului **29** sunt prezentate in tabelul 2. Cele mai bune randamente obtinute dupa purificare au fost pentru folosirea Cs_2CO_3 ca baza si amestecului diglim: H_2O ca solvent.

Conditii de reactie pentru macrociclul 29	Randment %
diglim: H_2O , K_2CO_3	22%
diglim: H_2O , Cs_2CO_3	30%
DMF: H_2O , Cs_2CO_3	26%
Reactie One-pot, $^t\text{BuOK}$	10%
Reactie One-pot, Cs_2CO_3	12%

Tabelul 2.

Structura noului macrociclu **29** a fost confirmata prin ^1H -RMN (Figura 7), ^{13}C -RMN si spectroscopie MS-ESI(+). Parte din spectrul ^1H -NMR confirma simetria macrociclului **29**, protoni alchilici ai trietilen glicolului apar ca doi tripleti la 3.88 ppm (portocaliu) si la 3.63 ppm (verde), respectiv ca un singlet la 3.57 ppm (albastru). In partea aromatica se pot vedea doi dubleti caracteristici protonilor din unitatea tiofenica (inelul **B**) la 7.40 ppm (rosu) si 6.94 ppm (mov) cu o constanta de cuplaj $J^3 = 7.3$ Hz, pt inelele **A** si **C** se observa suprapunerea picurilor in regiunea dintre 7.80-7.00 ppm (gri).

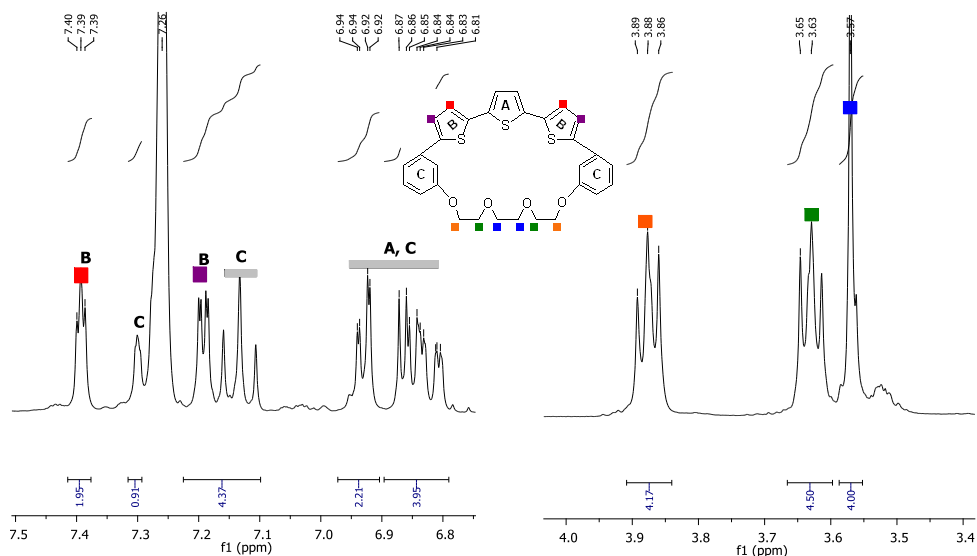
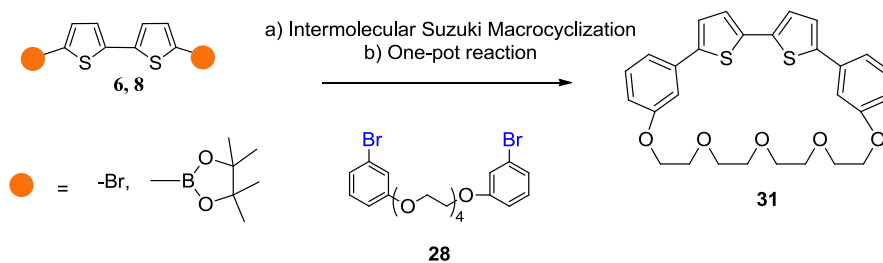


Figura 7. Parte din spectrul $^1\text{H-NMR}$ a macrocicului **29** (CDCl_3 , 300 MHz).

Pentru reacția bitiofenului de tip **6** și **8** cu lanțul **26** au fost încercate metoda clasică de macrociclizare Suzuki utilizând Cs_2CO_3 ca bază în amestec de diglim : apă sau DMF : apă și reacția one-pot utilizând Cs_2CO_3 ca bază. Macrocicluul dorit nu a fost obținut probabil datorită lungimii prea scurte a lanțului **26**. În schimb compusul obținut a fost derivatul monobromurat **30**.

Non ciclizarea compusului **30** ne-a sugerat schimbarea lanțului flexibil **26** cu derivatul **28**. Pentru reacția de ciclizare s-a folosit esterul **8** sau bitiofenul **6** cu lanțul flexibil **28**, pentru reacția de macrociclizare s-au folosit aceleași metode descrise pentru macrocicluul **29**, schema 20.



Schema 20.

Structura macrocicului a fost confirmată prin RMN și EI-MS. Spectrul $^1\text{H-RMN}$ al derivatului **31** este prezentat în figure 9. Simetria macrocicului este confirmată prin semnalele alchilice ale unității etilen glicolice ca și patru tripleți la 3.97 ppm, 3.73 ppm, 3.37 and 3.35 ppm. În regiunea aromatică semnalele cele mai dezecranate sunt pentru protonii unității tiofen (rosu) și protonii *ortho* ai unității benzenice (mov), pentru ceilalți protoni aromatici, inelele **A** și **B**, semnalele RMN se suprapun între 7.19 și 6.82 ppm.

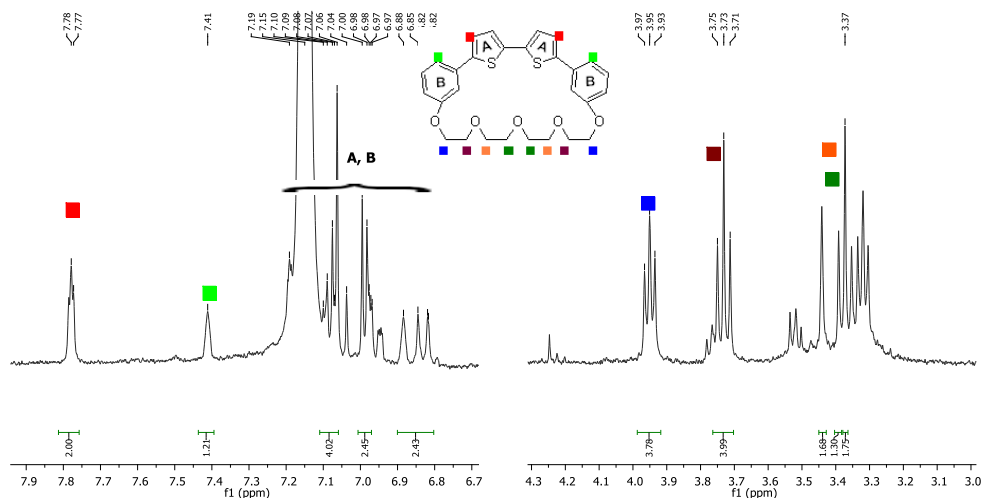
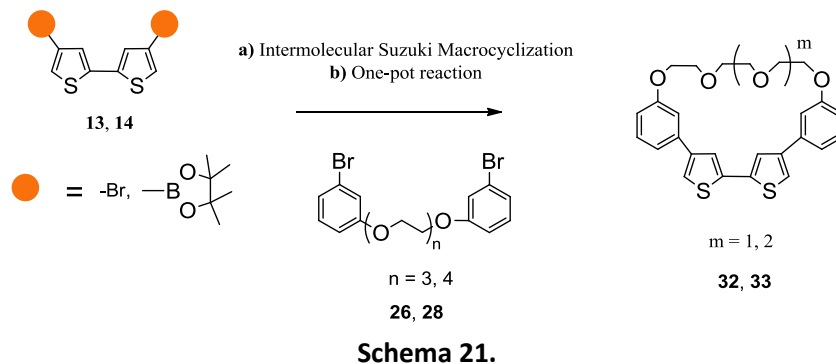


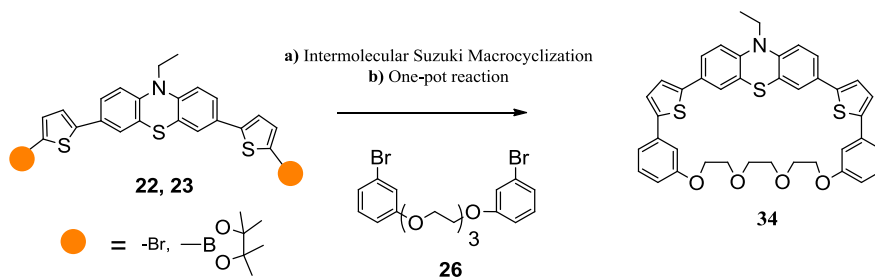
Figura 9. Fragment din spectrul $^1\text{H-NMR}$ al derivatului **31** (C_6D_6 , 300 MHz).

Este bine cunoscut ca derivatii tiofenici substituiti in pozitia 3 pot usor polimeriza. Acesta a fost unul din motivele pt care am inceca sa obtinem macrociclii cu unitati de 2,2'-bitiofen-4,4'-disubstituiti (**13** and **14**). Un alt motiv a fost compararea reactivitatii 2,2'-bitiofen-4,4'-disubstituiti cu cel 5,5'-disubstituit cu cele doua tipuri de lant dibromurat. Derivatii **13** si **14** au fost reactionati cu lanturile dibromurate **26** si **28**. In sinteza acestor doi macrociclii s-au folosit metoda clasica Suzuki cu Cs_2CO_3 ca baza si amestec de diglim : apa ca solvent si o metoda one-pot tot cu Cs_2CO_3 ca baza prin, schema 21.



Pentru acesti doi macrociclii (**32** si **33**) randamentele de reactie au fost mai mici decat am asteptat. Similar cu macrociclii descrisi mai sus cele mai bune randamente au fost obtinute folosind Cs_2CO_3 ca baza si amestec de diglim: H_2O ca solvent.

Folosind aceleasi metode de macrociclizare: metoda clasica Suzuki (a) si one-pot (b) am sintetizat un nou macrociclu **34**, schema 22.



Schema 22.

Cele mai bune randamente de reactie pentru macrociclul **34** au fost obtinute pt Cs_2CO_3 ca baza si diglim: H_2O ca amestec de solvent, tabelul 6.

Conditii de reactie pentru macrociclul 34	Randament %
diglim: H_2O , K_2CO_3	17 %
diglim: H_2O , Cs_2CO_3	31 %
DMF: H_2O , Cs_2CO_3	20 %
One pot reaction, $^t\text{BuOK}$	< 5 %
One pot reaction, Cs_2CO_3	8%

Table 6.

Structura macrociclului **34** a fost confirmata prin ^1H -RMN, APT-RMN si EI-MS. Spectrul ^1H -RMN a macrociclului tinta in C_6D_6 este prezentat in figura 11. In spectrul ^1H -NMR simetria noului macrociclu **34** a fsoat confirmata prin semnalele protonilor alchilici ai unitatii trietilenoxi ca si doi tripleti la 3.85 ppm (albastru) si 3.53 (visiniu) si un singlet la 3.30 ppm (verde inchis). In regiunea aromatica cele mai dezecranate semnale sunt dubletul de la 7.71 ppm (rosu) apartinand tiofenului si dubletul de la 7.36 ppm (verde deschis) al fenotiazinei. Semnalele protonilor inelelor aromatice **A**, **B** si **C**, apar ca o suprapunere intre 7.20 si 6.80 ppm.

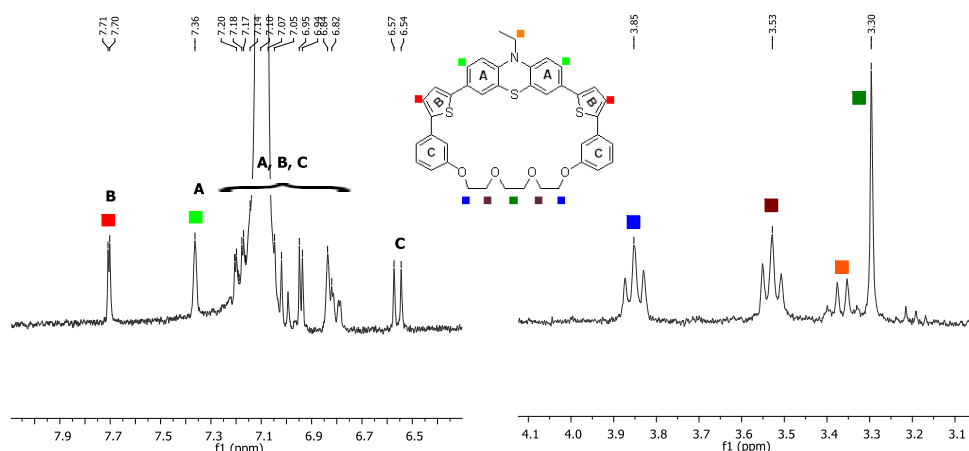


Figura 11. Fragmente din spectrul $^1\text{H-NMR}$ al macrocicului **34** (C_6D_6 , 300 MHz).

Cinci noi macrociclii **29**, **31**, **32**, **33** și **34** au fost sintetizati și caracterizați. Sinteza acestor macrociclii a fost încercată prin metoda clasică de macrociclizare Suzuki (trei cai) și o nouă abordare prin sinteza one-pot.

1.2.5. Concluzii

În acest capitol au fost abordate două cai de macrociclizare folosind reacția de cuplare intermoleculară Suzuki, varianta clasică între un ester diboronic și un derivat diromurat și o nouă abordare în care reacțiile de litieră și cuplare au fost realizate *in situ*, metoda one-pot. Pentru toate reacțiile de cuplare s-a folosit catalizator de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$.

Pentru macrociclii tinta s-au sintetizat șase noi podanți, derivații: **14**, **19**, **21**, **22**, **23** și **32**, care au fost analizați și caracterizați prin RMN și MS.

Prin metoda de macrociclizare abordată am sintetizat cinci noi macrociclii cu unități de bitiofen, tertiofen și tiofen-fenotiazina, **29**, **31**, **32**, **33** și **34**.

Cele mai bune randamente de reacție pentru acești macrociclii au fost obținute folosind Cs_2CO_3 ca bază și diglim : apa ca amestec de solvent.

Pentru acești cinci noi macrociclii o nouă metoda de sinteză a fost încercată, metoda one-pot, această metoda a dat randamente de reacție mai mici decât am așteptat.

1.3. Macrociicii cu Posibile Aplicatii in Sinteza Rotaxanilor

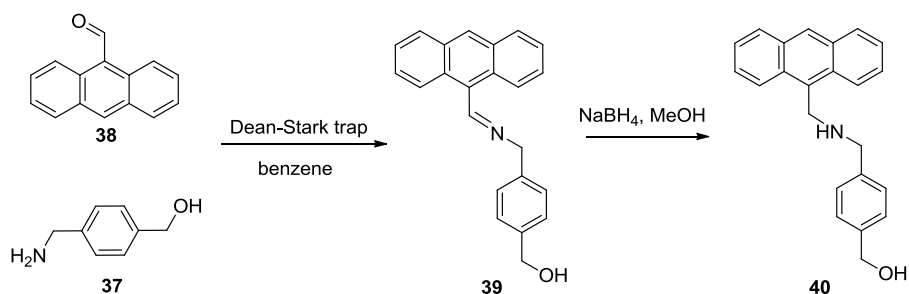
1.3.5. Rezultate si Discutii

Obiectivul nostru a fost sinteza unor noi [n]rotaxani printr-o reactie inermoleculara a inelului macrociclic dintr-un [2]rotaxan cu o alta unitate de legatura. Axeli studiati au ca unitate de baza o sare aminica iar ca inel derivati macrociclici functionalizati. Pasul final pentru sinteza [2]-rotaxanilor am vrut sa fie reactia dintre macrociicii functionalizati cu diferite unitati de legatura.

1.3.5.1. Sinteza axelilor

Primul pas a fost sinteza unitatii aminice (**37**), comuna pentru toti axeli. *p*-Bromo cianobenzilul a fost hidrolizat la amino-alcoolul corespunzator **36**⁶. Amina **37** sensibila la aer si umiditate a fost utilizata fara purificare in sinteza axelilor.

Pentru sinteza de monoaxel, diaxel si triaxel amina **37** a fost folosita in reactii de condensare cu trei tipuri de aldehide⁷ obtinanduse imine, acestea au fost utilizate in formarea aminelor fara purificare. Pentru monoaxel aldehida antracenului a fost folosita ca "stopper" pe o parte si a fost reactionata cu amina **37** formandu-se imina **39**, redusa la dervatul **40**, cu un randament per total de 65%, schema 24. Sarea **41** s-a obtinut din amina **40** in mediu acid urmata de tratarea cu o solutie de 20% NaPF₆ pentru a obtine monoaxelul in randament de 75 %.

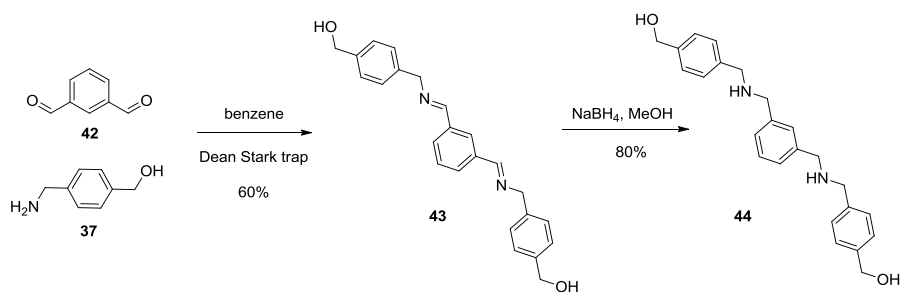


Schema 24.

Aceleasi proceduri de reactie folosite in sinteza monoaxelului, reactie de condensare dintre aldehida si aminam pentru obtinerea iminei (**43**) urmata de reducerea la amina, au fost urmate si in sinteza diaxelului (**44**). Izoftalaldehida a fost folosita ca unitate de legatura in sinteza diaxelului, schema 26.

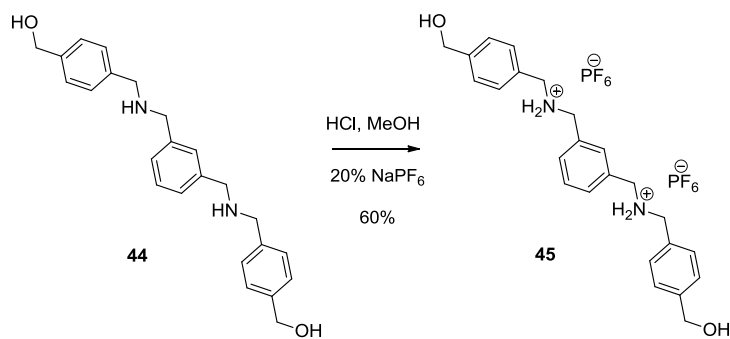
⁶ (a) B. F. Glisin *Helv. Chim. Acta* **1973**, *56*, 1476; (b) J. A. Garvin, M. E. Garcia, A. J. Benesi, T. E. Mallouk *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 7663; (c) S. Vassiloiu, M. Xeillari, A. Yiotakis, J. Grembecka, M. Pawelczak, P. Kafarski, A. Mucha *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3187.

⁷ J. D. Badjic, V. Balzani, A. Credi, J. N. Lowe, S. Silvi, J. F. Stoddart *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 1926.



Schema 26.

Diaxelul **44** a fost transformat la sarea 2-hexafluorofosfata, **45**, care face molecula mai solubila in solventii organici obisnuiti, schema 27.



Schema 27.

Pentru diaxelul **45** prezenta ionului PF_6^- este confirmata de spectrele de ^{31}P -RMN in care se vede cuplajul fosforului cu fluorul ca un heptet iar in ^{19}F -RMN cuplajul fluorului cu fosforul ca un dublet, figura 19.

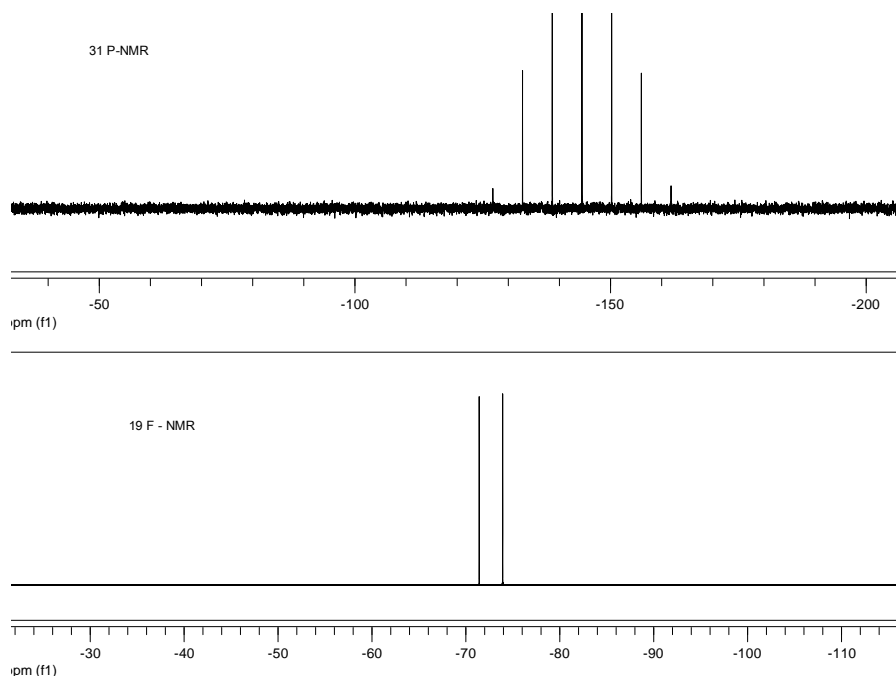
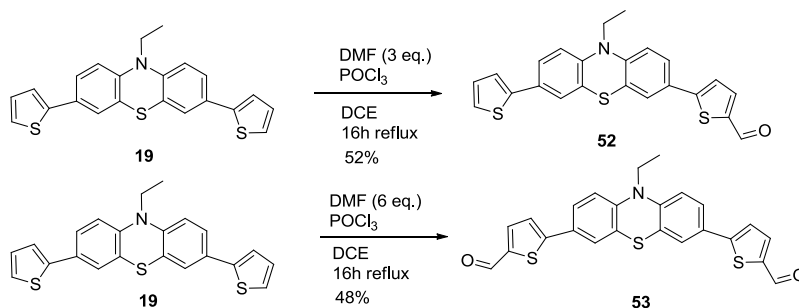


Figura 19. Spectrele diaxelului **45** de ^{31}P -RMN (CD_3CN , 121 MHz) si ^{19}F -RMN (CD_3CN , 282 MHz).

1.3.5.2. Sinteza macrociclorilor

Moleculele ce contin unitati de tiofen si fenotiazina prezinta interesante proprietati opto-electronice, prezentate in capitoulu 1.2.1, acesta a fost un motiv pentru care am dorit sinteza de macrociclii cu astfel de unitati si folosirea lor in siteza rotaxanilor.

In sinteza macrociclorilor doriti unitatea de baza este 3,7-dibromo-10-etil-10H-fenotiazina **16** si esterul pinacolic **17**. Un alt podand important este 10-etil-3,7-di(thien-2-yl)-10H-fenotiazina **19**, sinteza descrisa in schema 10. Derivatul **19** a fost supus unei reactii de formilare de tip Vilsmeier Haack obtinandu-se aldehidele **52** si **53**, reactie depinzand de numarul de echivalenti de agent Vilsmeier adaugati, schema 31.



Schema 31.

Suprapunerea spectrelor $^1\text{H-RMN}$ ale monoaldehidei **52** si dialdehidei **53**, partea aromatica, sunt prezentate in figura 20. Pentru monoaldehida RMN-ul a fost efectuat in C_6D_6 iar pentru dialdehida in $\text{DMSO-}d_6$. In spectrul $^1\text{H-RMN}$ se observa ca cele mai dezecranate semnale apartin protonilor gruparii carbonil. Pentru dialdehida **53** se observa simetria moleculei prin doua dublete pentru nucleul tiofenic **A** iar pentru fenotiazina un dublet si suprapunerea picurilor din inelele de tip **B**.

Pentru monoaldehida **52** semnalele apar mai expandate. Cele mai dezecranate semnale corespund nucleului fenotiazinic **B**. Pentru formil-tiofen, nucleul **A**, semnalele protonilor apar ca doua dublete. Cei trei protoni ai nucleului **D** apar ca un dublet si semnalele suprapuse la aproximativ 6.8 ppm.

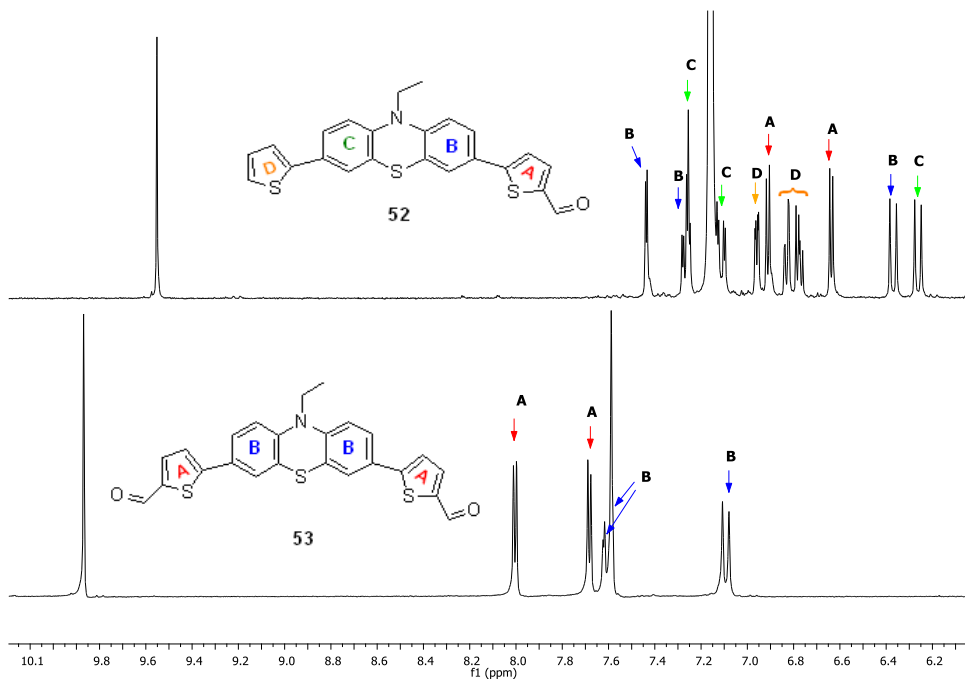
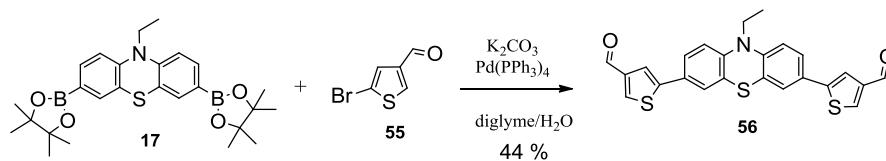


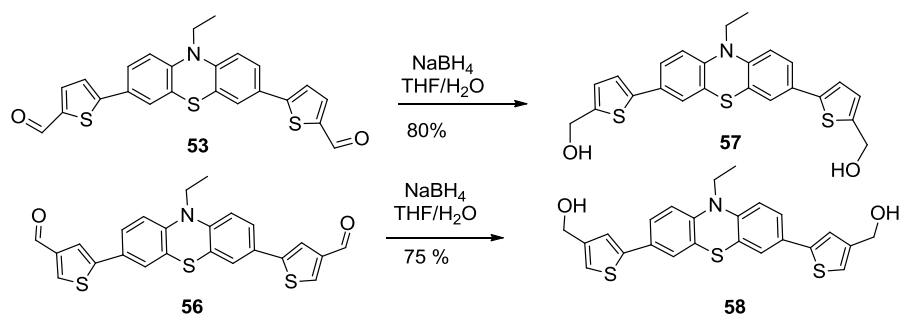
Figure 20. Parte din spectrele $^1\text{H-RMN}$ al monoaldehidei **52** (C_6D_6 at 300 MHz) si dialdehidei **53** (d^6 -DMSO, 300 MHz).

Dialdehida **56** a fost sintetizata prin reactie de cuplare Suzuki dintre 10-etil-3,7-bis(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-yl)-10H-fenotiazina **17** si **55**, schema 33.



Scheme 33.

Cele doua dialdehide **53** si **56** au fost reduse la alcooli **57** si **58** utilizand NaBH_4 in amestec de THF:apa ca solvent, schema 34.

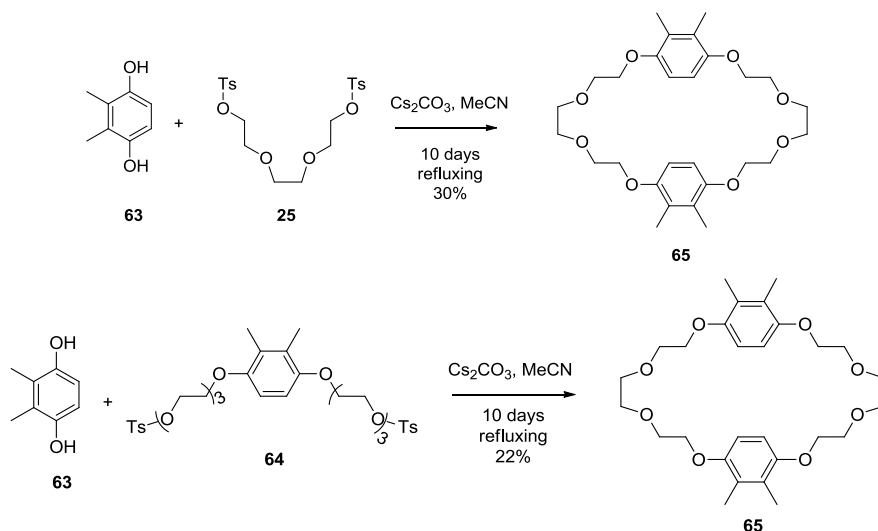


Schema 34.

Pentru obtinerea diferitelor tipuri de macrociclii cu unitati eter-coroana pentru a forma legaturi de hidrogen cu axul, s-a sintetizat un nou macrociclu cu cavitatarea interna de 28 de atomi.¹³

Derivatul ditosilat **25** a fost reactionat cu 2,3-dimetil-hidrochinona **63** in conditii de ultra dilutie pentru obtinerea podandului **64**, folosind acetonitril anhidru si K_2CO_3 ca baza, reactia a fost refluxata timp de 7 zile⁸.

Printr-o procedura asemanatoare folosind Cs_2CO_3 in loc de K_2CO_3 ca baza, in conditii de ultradilutie, si adaugarea in picaturi timp de 3 zile a derivatului ditosilat **25** peste chinona **63**, un nou macrociclu **65** a fost sintetizat. Reactia a fost refluxata inca 7 zile apoi purificata pe coloana cromatografica obtinandu-se macrociclu **65** in randament de 30%. Acest macrociclu s-a mai obtinut din reactia ditosilatului **64** cu 2,3-dimetil-hidrochinona **63** si Cs_2CO_3 , in conditii de ultradilutie cu un randament de 22%, schema 41.



Schema 41.

⁸ Ichia, L.; Willner, I. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 13094.

Structura macrociclului **65** a fost demonstrata și investigată și prin analiză pe monocristal prin difracție de raze X. Diagrama ORTEP arată un aranjament aproape planar al macrociclului; unghiul dintre cele două plane descrise de unitățile aromatice este $\alpha=0.00^\circ$; cu $d' = 6.430 \text{ \AA}$ (figura 24).

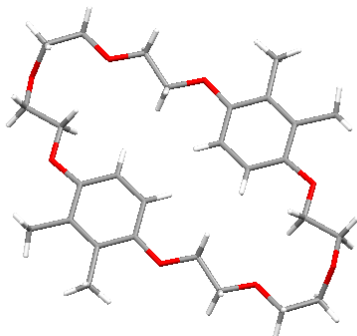


Figura 24. ORTEP diagram of macrocycle **65**.

Perspective rețelei dealungul axei b arată formarea de coloane, figura 25.

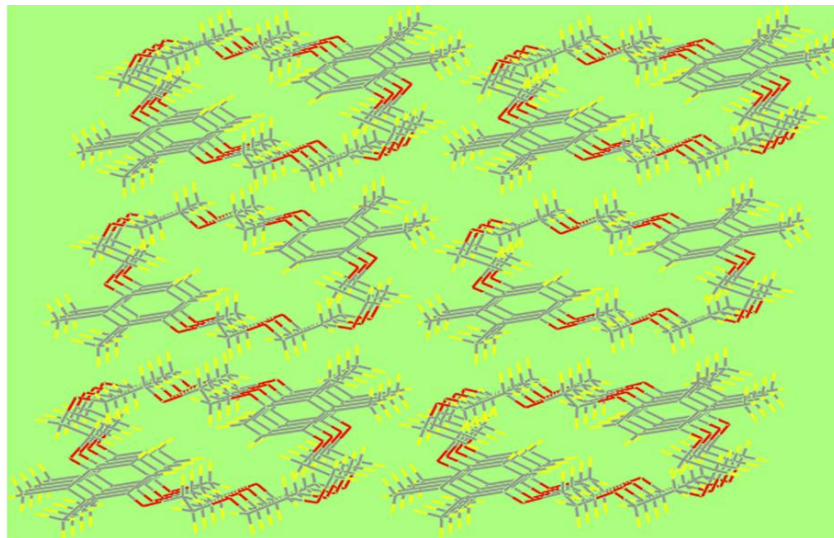


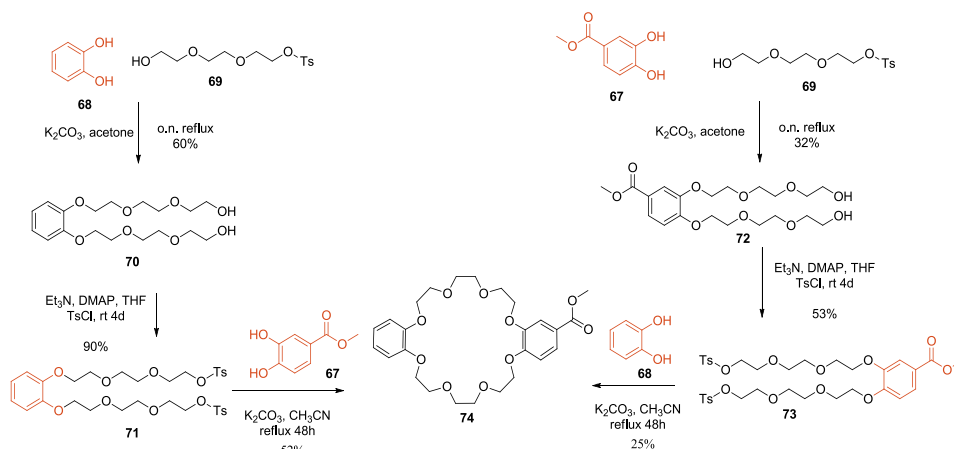
Figura 25. Perspectiva rețelei dealungul axei cristalografice b.

Pentru sinteza de macrociclii funcționalizați în vederea reacțiilor intermoleculare cu diferite unități de legătură s-au sintetizat macrociclii cu grupări OH sau COOH.

În sinteza de macrocicliilor cu grupări OH sau COOH s-au sintetizat mai întâi precursorii. Ca și parte asimetrică a macrociclului am folosit metil 3,4-dihidroxibenzoate⁹ **67**, care a fost sintetizat din acidul corespunzător **66**, schema 42.

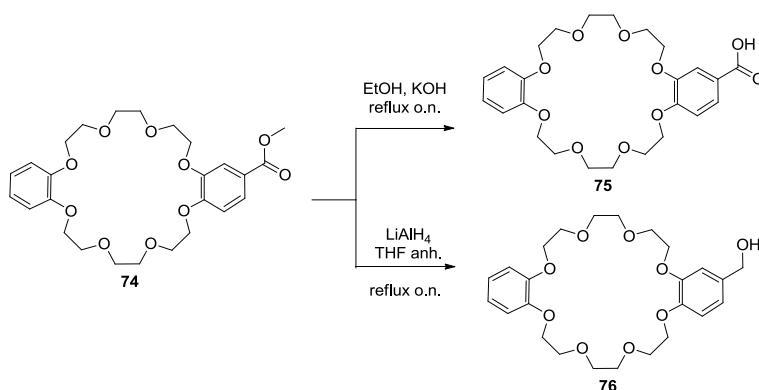
⁹Y. Kita, M. Arisawa, M. Gyoten, M. Nakajima, R. Hamada, H. Tohma, T. Takada *J.Org.Chem.* **1998**, *63*, 6625.

În sinteza macrociclului **74**^{10,11} au fost urmate două cai; prima începând de la trietileneglicolul monotosilat **69** și pirocatecolul **68**, iar a doua cale înlocuiește metil-3,4-dihidrobenczoatul **67** cu același monotosilat urmata de reacția cu catecolul, schema 43.



Schema 43.

După sinteza macrociclului **95** s-au sintetizat în mediu alcalin acidul **75**, și prin reducere cu hidrura de litiu și aluminiu alcoolul¹² **76**, pentru a forma cei doi macrocicli funcționalizați, schema 44.



Schema 44.

1.3.5.4. Formarea pseudorotaxanilor și rotaxanilor

În sinteza rotaxanilor primul pas este formarea pseudorotaxanului corespunzător. Primul pseudorotaxan obținut de noi a fost **83**, format din monoaxelul **62** și macrociclul comercial “dibenzo-24-crown ether” (DB24).

¹⁰ K. Yamabuki, Y. Isobe, K. Onimura, T. Oishi *Chem. Lett.* **2007**, *36*, 1196.

¹¹ D.-J. Feng, X.-Q. Li, X.-Z. Wang, X.-K. Jiang, Z.-T. Li *Tetrahedron* **2004**, *60*, 6137.

¹² S. J. Cantrill, G. J. Youn, J. F. Stoddart *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6857.

Axul **41** are antracen ca unitate “stopper” pe o parte, astfel am decis formarea pseudorotaxanului prin metoda *threading* in care axul se introduce in macrociclu DB24. Formarea pseudorotaxanului a fost urmarita in UV-Vis, dar nu s-a observat nicio modificare in picurile de absorbtie comparativ cu cele ale axelului **41** si DB24.

Formarea pseudorotaxanului **83** a fost urmarita si in $^1\text{H-NMR}$. In spectrul $^1\text{H-NMR}$ se observa deplasarea semnalelor implicate in legaturile de hidrogen, figura 27. Se poate observa ca protonii inelului benzenic ai macrocicluului sunt mai ecranati la 6.5 ppm (sageata mov) iar protoni alchilici ai monoaxelului implicati in legatura de hidrogen sunt mai dezecranati, la 5.3 ppm (sagetile rosu si albastru).

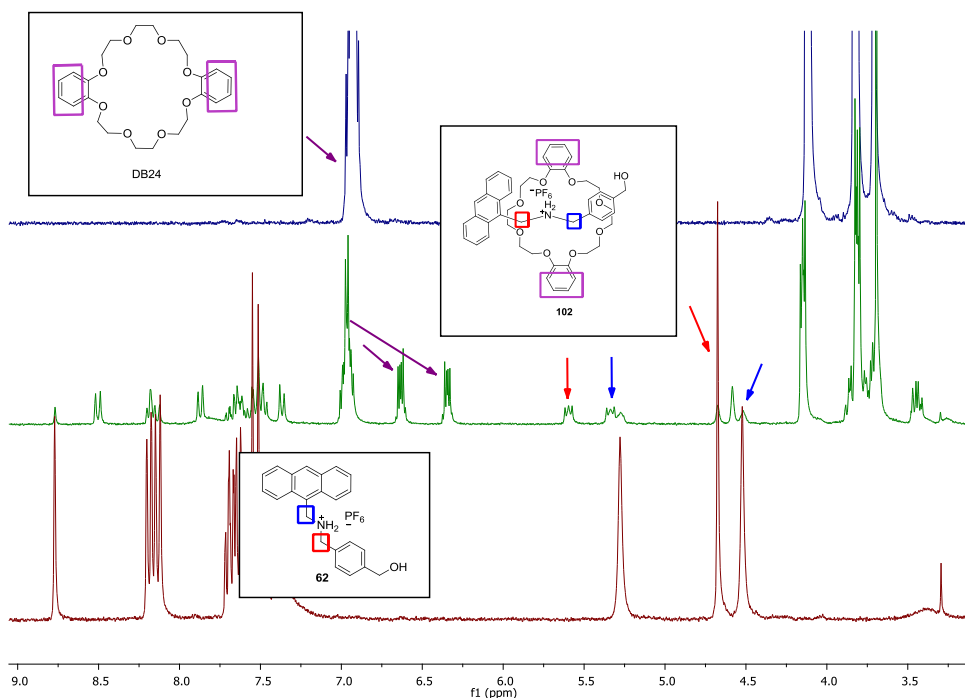
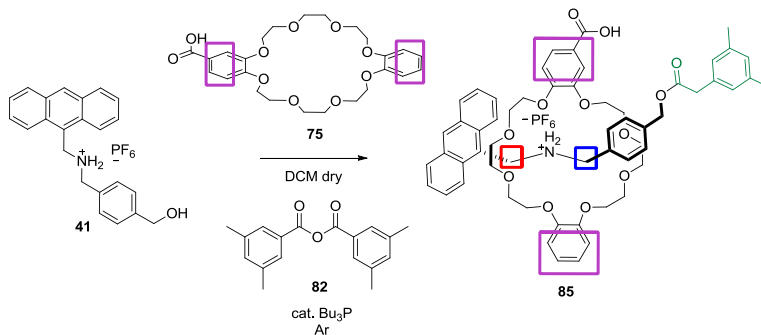


Figura 27. Spectrele $^1\text{H-NMR}$ comparabile al pseudorotaxanului **83** cu DB24 si monoaxelul **41** (CD_3CN , 300 MHz).

Primul rotaxan sintetizat de noi a fost obtinut din reactia monoaxelului **41**, macrocicluului **75** si anhidrida 3,5-dimetilbenzoica ca precursor pentru « stopper », schema 49.



Schema 49.

Spectrul ^1H -RMN al rotaxanului **85**, figura 28, prezinta semnale specifice pentru protonii implicati in legaturile de hidrogen dintre ax si macrociclul asimetric. Atomii de hidrogen ai inelului benzenic (mov), aparand ca un multiplu, sunt ecranati de la 6.87 ppm la 6.57 si 6.37 ppm, semnale specifice protonilor aromatici implicati in legaturile de hidrogen. Protonii metilenici ai axelului (sagetile albastru si rosu) sunt dezecranate de la 4.65 si 4.50 la aproximativ 5.48 si 5.34 ppm ca semnale largi. Atasarea unitatii "stopper" este confirmata de prezenta celor doi singleti ai gruparii metil la aproximativ 2.40 ppm.

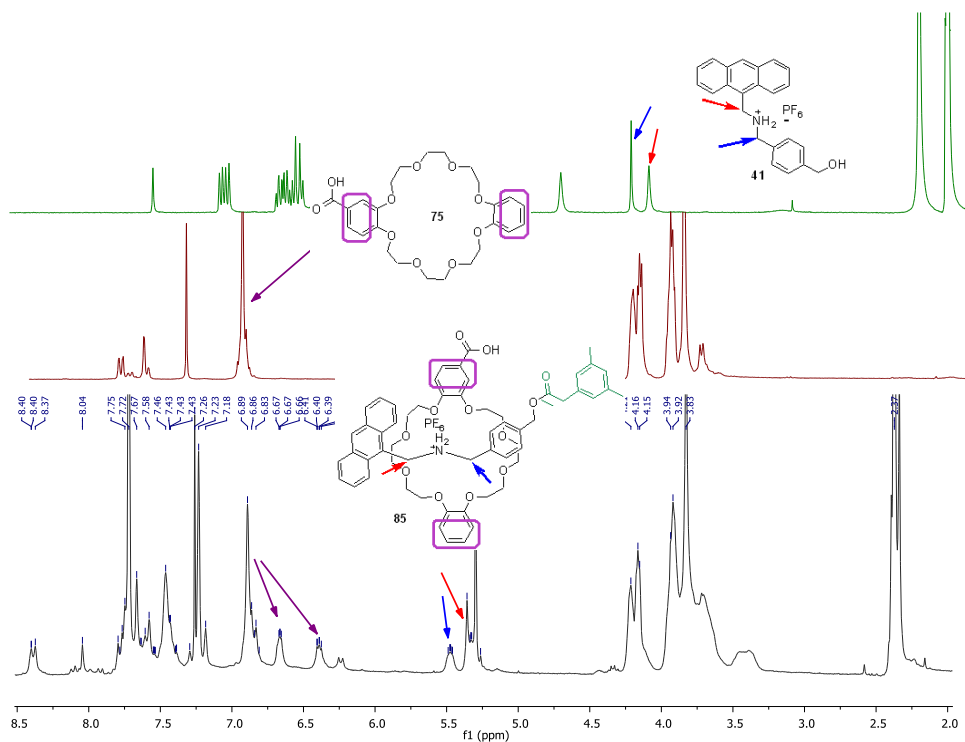


Figura 28. Suprapunerea spectrelor ^1H -RMN ai monoaxelului **41** (CD_3CN , 300 MHz), macrociclului **75** și rotaxanului **85** (CDCl_3 , 300 MHz).

Acest nou [2]-rotaxan, **85**, este primul precursor pentru viitoarele reacții intermoleculare cu diferite unități de legătură pentru formarea [n+1]-rotaxanilor tinta.

1.3.6. Concluzii

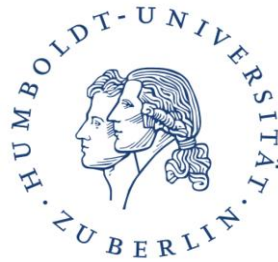
Pentru sinteza noului diax **45**, ca sare hexafluorofosfat, s-au sintetizat imina **43** si amina **44**.

Ca precursori in sinteza macrociclor tinta s-au sintetizat compusi cu unitati tiofen-fenotiazinici ca: monoaldehida **52**, dialdehidele **53**, **56** si diolii **57** si **58** , si un nou derivat ditosilat **64**, toti acesti compusi au fost analizati prin RMN si MS.

Un nou macrociclu **65** a fost sintetizat prin doua cai, acesta a fost analizat prin RMN, MS si cristalografie de raze X.

Un nou rotaxan **85** a fost sintetizat si caracterizat prin RMN si MS.

2. Noi Unitati Lipidice Functionalizate Pentru Aplicatii in Biofizica



Cuvinte Cheie:

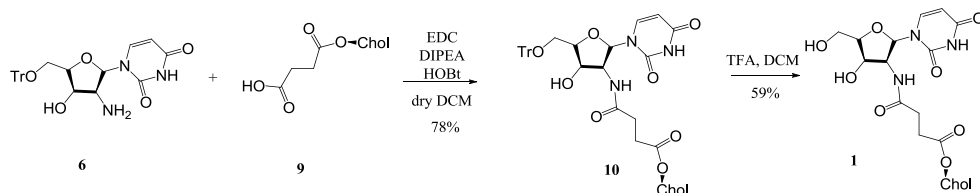
Colesteril-nucleozide, nucleobaze
Lipide amfilice
Microtuburi lipidice
Nano-transportor

2.2. Nucleozide Colesterol-Modificate ca Precursori Pentru Auto-Asamblarea Microtuburilor

2.2.3. Rezultate si Discutii

Scopul acestei parti a fost sinteza de noi derivati colesteril nucleozidici,-nucleobazici cu diferite lungimi de lanturi, tip de nucleozida, nucleobaza sau atasamente, si posibilele aranjari in urma autoasamblarii ca micro tuburi amestecate cu fosfolipide.

Pentru sinteza derivatului **1**, cei mai importanti precursori sunt **6** si **9**. Reactia de cuplare a fost mediata de 1-etil 3, 3 dimetilaminopropil carbodiimida (EDC), hidroxibenzotriazol (HOBt) si N,N diisopropiletilamina (DIPEA) in diclorometan anhidru, schema 3.¹³ Ultimul pas fiind deprotejarea gruparii tritil cu acid trifluoroacetic (TFA) in DCM obtinandu-se **1** in 55%.



Autoasamblarea 2'-N-(2-(cholesteryl)-succinyl)-2'-deoxy-2'-aminouridinei **1** prin combinarea cu dioleoylphosphatidylcholine (DOPC) a dus la formarea unor micro tuburi (figura 8) vizualizate printr-un microscop de fluorescanta Olympus IX-81. Pe langa formarea veziculelor si agregatelor, s-au format structuri tubulare cu diametre de 2-3 μm si sub 1 μm la lumina microscopului (Figura 8).

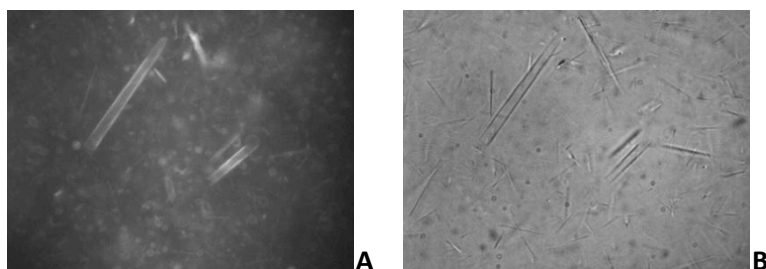
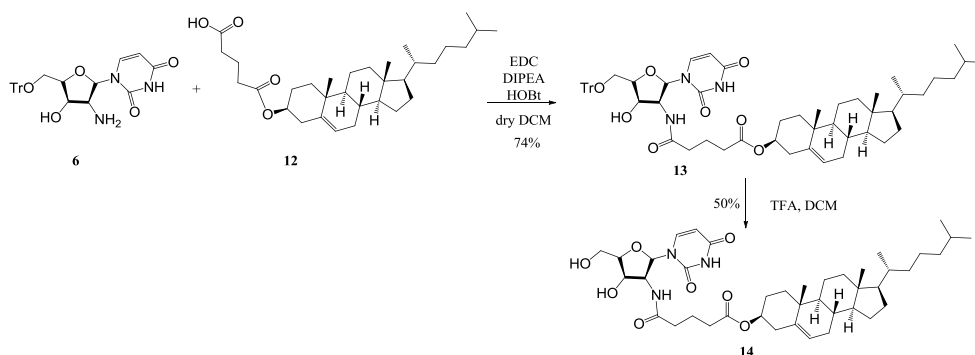


Figura 8. Aranjament tubular autoasamblat al *N*-(2-(cholesteryl)-succinyl)-2'-deoxy-2'-aminouridine **1**, in conditii dde 69 :30:1 mol% DOPC/conjugate/NBD-DPPE (all lipids from Avanti Polar Lipids Inc.) Imagini date de microscop de fluorescanta cu inversie Olympus IX-81. **A)** NBD imaginea fluorescanta; **B)** interferente de imagine diferite

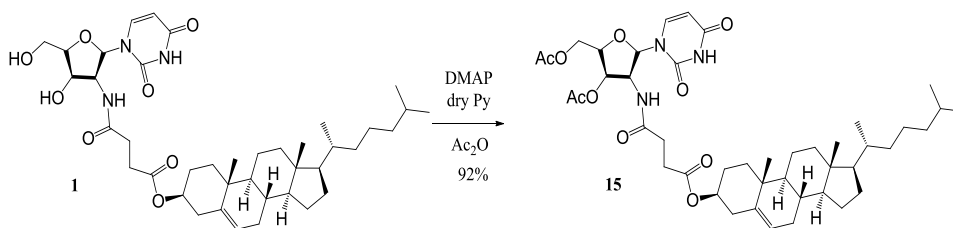
¹³ (a) G. Hofle, W. Steglich, H. Vorbriiggen *Angew. Chem. Int. Ed.* **1978**, *17*, 569; (b) A. D. Abell, B. K. Nabbs *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, *9*, 621.

O metoda similara ca cea descrisa pentru compusul **1** s-a folosit si pentru sinteza compusului **14**, i. e. reactia anhidridei glutarice cu colesterolul. Urmata de reactia de condensare dintre derivatii **6** si **12**, si deprotejarea de gruparea tritol a derivatului **13**, schema 4.



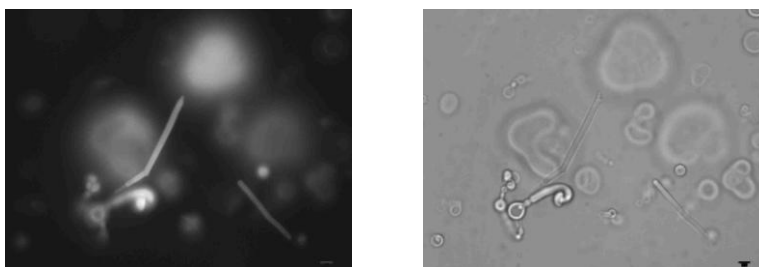
Scheme 4.

Pentru a observa daca cele doua unitati OH ale zaharului sunt responsabile pentru formarea microtuburilor, au fost protejate cu grupari acetil. Derivatul **1** a fost acetilat utilizand cantitate catalitica de DMAP in piridina cu anhidrida acetica¹⁴ obtinandu-se **15** in randament de 92%, schema 5.



Scheme 5.

Pentru derivatul nucleozidic **15**, imaginile microscopului de fluorescanta arata formarea unor cristale alungite prin aranjamentul format cu DOPC, majoritatea fiind agregate, figura 10.



¹⁴ S. K. Mahto, C. S. Chow *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 8795.

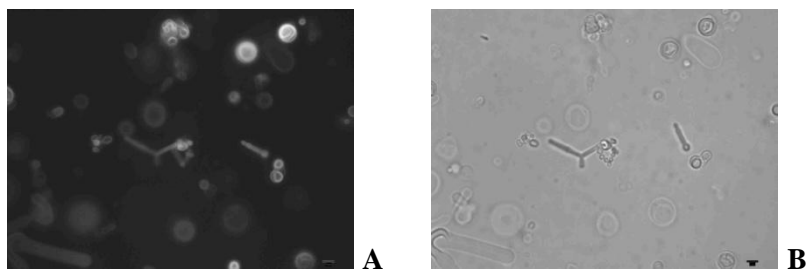
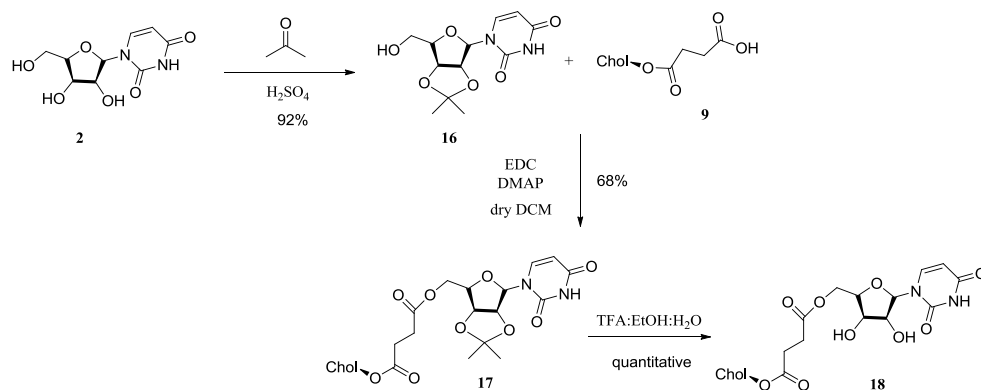


Figura 10. Auto-asamblarea pentru derivatul **15** in forma de funie, in conditii dde 69 :30:1 mol% DOPC/conjugate/NBD-DPPE (all lipids from Avanti Polar Lipids Inc.) Imagini date de microscop de fluorescanta cu inversie Olympus IX-81. **A)** NBD imaginea fluorescanta; **B)** interferente de imagine diferentiate

Primul pas al sintezei deivatuului **18** a fost protejarea pozitiiilor 2' si 3' ai uridinei cu acetona in mediu acid.¹⁵ Pasul urmator a fost o reactie de cuplare intre derivatul **16** si colesteril succinatul **9**¹⁶ in prezenta de 4-dimetil-aminopiridina (DMAP). In final obtinandu-se compusul **18** prin reactia de deprotezare¹⁷ cu un randament cantitativ, schema 6.



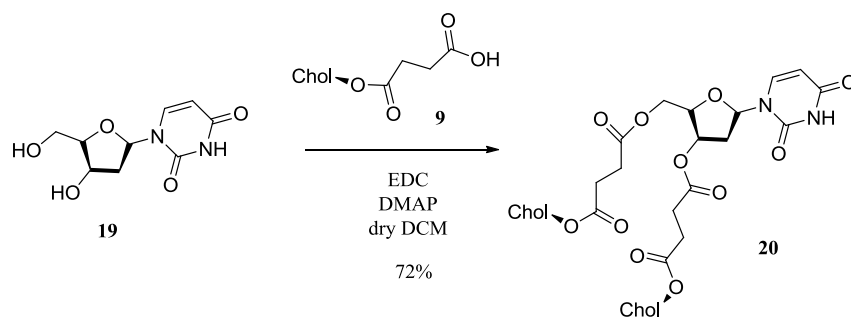
Schema 6.

Pentru investigarea proprietatilor de auto-asamblare ale uridinei di-colesterol substituita am sintetizat compusul **20**. Printr-o reactie simpla dintre 2'-deoxiuridina **19** in diclorometan cu DMAP si EDC ca agent mediator, am sintetizat dicolesteril-uridina **20** cu un randament de 72%, schema 7.

¹⁵ P. Tarasconi, S. Capacchi, G. Pelosi, M. Cornia, R. Albertini, A. Bonati, P. P. Dall'Aglio, P. Lunghi, S. Pinelli *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 157.

¹⁶ A. Thesis, H. Ritter *Macromolecules* **2003**, 7552.

¹⁷ D. W. Gammon, R. Hunter, S. Wilson *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 3141.



Schema 7.

Pentru amestecul de derivat dicolesterilic **20** si DOPC, imaginea microscopului arata formarea de agregate extinse, figura 13. Derivatul **20** a fost mixat cu fosfolipida astfel incat acestea s-au incorporat foarte bine intre straturi. In proba analizata nu s-a observat formarea niciunei structuri angulare.

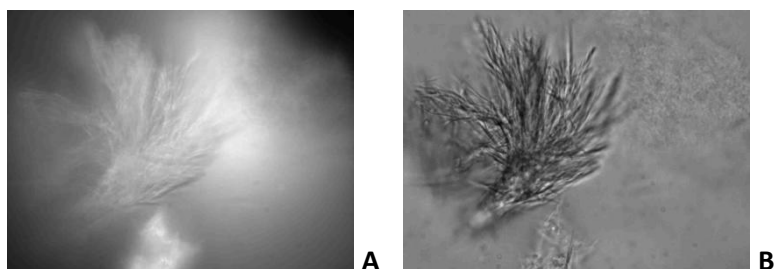
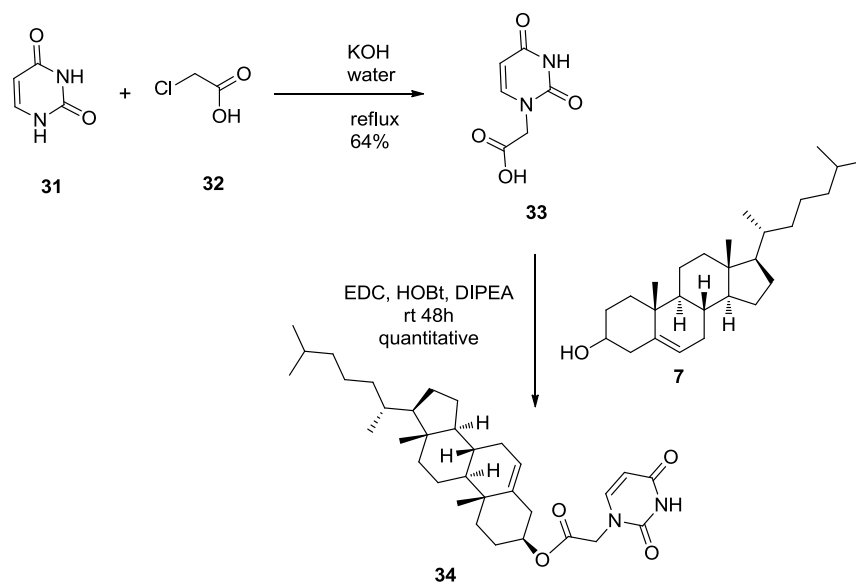


Figura 13. Autoasamblarea derivatului **20**, in conditii de 69 :30:1 mol% DOPC/conjugate/NBD-DPPE (all lipids from Avanti Polar Lipids Inc.) Imagini date de microscop de fluorescanta cu inversie Olympus IX-81.

A) NBD imaginea fluorescanta; **B)** interferente de imagine differentiate

Un alt nou derivat al colesterolului sintetizat este colesteryl uracilul **34**. Acid uracilul **33** a fost sintetizat din uracil si acid cloroacetic.¹⁸ Dupa reactia de N-alkilare acidul **33** s-a esterificat cu colesterol folosind aceleasi conditii de reactie prezentate pentru derivatii asemanatori, schema 12.

¹⁸ J. R. Jacobsen, A. G. Cochran, J. C. Stephans, D. S. King, P. G. Schultz *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5453.



Schema 12.

In proba preparata din 69:30:1 DOPC/colesterol/NBD-DPPE auto-asamblarea derivatului **34** a avut loc aproape in totalitate in vesiculele lipidei: observandu-se formarea de structur plate si ascutite, figura 15.

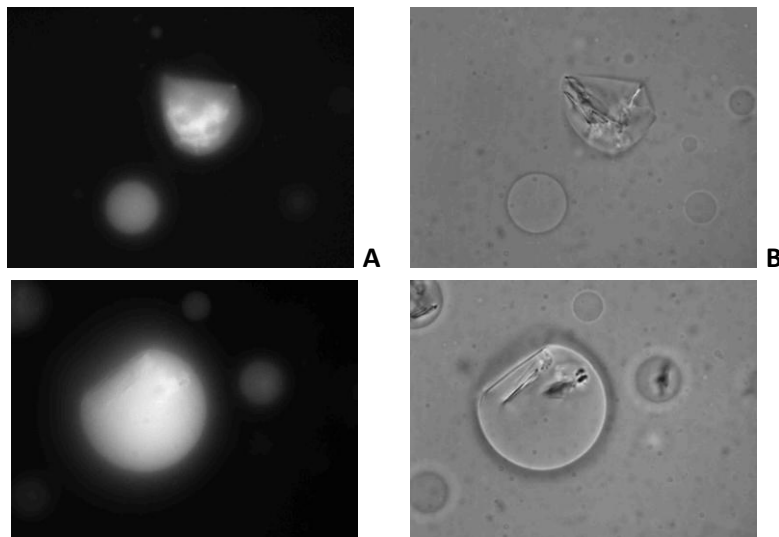


Figura 15. Flat and needle like structured images of derivative **34**, in conditii de 69 :30:1 mol% DOPC/conjugate/NBD-DPPE (all lipids from Avanti Polar Lipids Inc.) Imagini date de microscop de fluorescenta cu inversie Olympus IX-81. **A)** NBD imaginea fluorescenta; **B)** interferente de imagine differentiate

Ca perspectiva se vor sintetiza diferiti derivati de colesterol pentru care se vor studia aranjamentele in urma auto-asamblarii de catre bio-fizicieni

.2.4. Concluzii

Pentru obtinerea derivatilor tinta de colesterol s-au sintetizat patru noi compusi colesterol-uridinci (**14**, **15**, **18** si **20**) si un derivat colesterol-uracilic **34** care au fost analizati prin spectroscopie RMN, spectrometrie MS si analiza elementala.

Compusii tinta obtinuti au fost auto-asamblati prin combinarea cu dioleoilfosfatidilcolina (DOPC) de grupul de bio-fizicieni sub indrumarea Dr. A. Abruzova. Imaginile microscopului arata diferite aranjamente ale acestor compusi.

Auto-asamblarea 2'-N-(2-(colesteril)-succinil)-2'-deoxi-2'-aminouridinei **1** arata formarea de microtuburi cu un diametru mediu de ~300 nm sau 2-3 μm cateodata cu un tub subtire iesind la cate un capat al microtubului. Pentru derivatul **15** imaginile microscopului arata formarea de structuri lamelare ca vezicule si bucati de funie iar cele mai multe sunt agregate.

Pentru derivatul dicolesteril **20** auto-asamblarea arata formarea de agregate extinse iar pentru derivatul **34** s-a observat formarea de structuri ascutite.

2.3. Sinteza Unor Noi Derivati Amfilici cu Functiune de Recunoastere Biologica in Vederea Obtinerii Unor Sisteme Lipozomale Specifice de Transport

2.3.3. Rezultate si Discutii

Scopul acestei teme este sinteza si analiza unor noi sisteme lipid amfilice cu potential de debarasare al medicamentelor din lipozomi prin ruperea gruparii de legatura sau rupere glucoz-enzimatica¹⁹, reprezentarea schematica a acestui tip de molecula este aratata in figura 18.

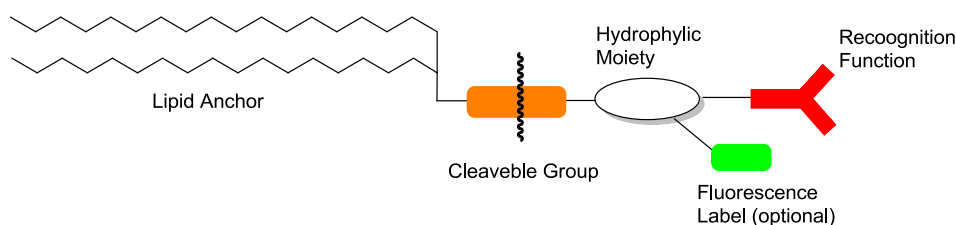
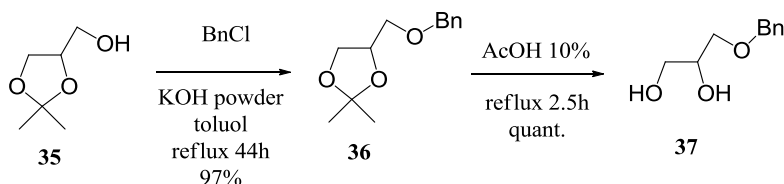


Figura 18. Lipida amfilica cu functie de recunoastere biologica, cu punte de rupere si optional o unitate fluorescanta pentru incorporarea in lipozomi

Primul pas in sinteza compusului tinta consta in protejarea gruparilor hidroxil al amestecului racemic 2,3-*O*-isopropiliden glicerolului **35**²⁰, urmata de deprotejarea glicerolului **36**²¹ pentru obtinerea diolului **37** in randament cantitativ, schema 14.



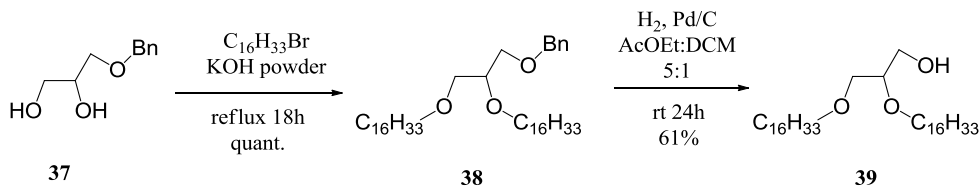
Schema 14.

Substitutia electrophila cu 1-bromohexadecan duce la formarea eterului benzil protejat **38**, redus mai apoi la alcolul corespunzator **39** in prezenta hidrogenului^{139a}, schema 15.

¹⁹ N. Brodersen PhD. Thesis, Humboldt-University Berlin, Germany **2009**.

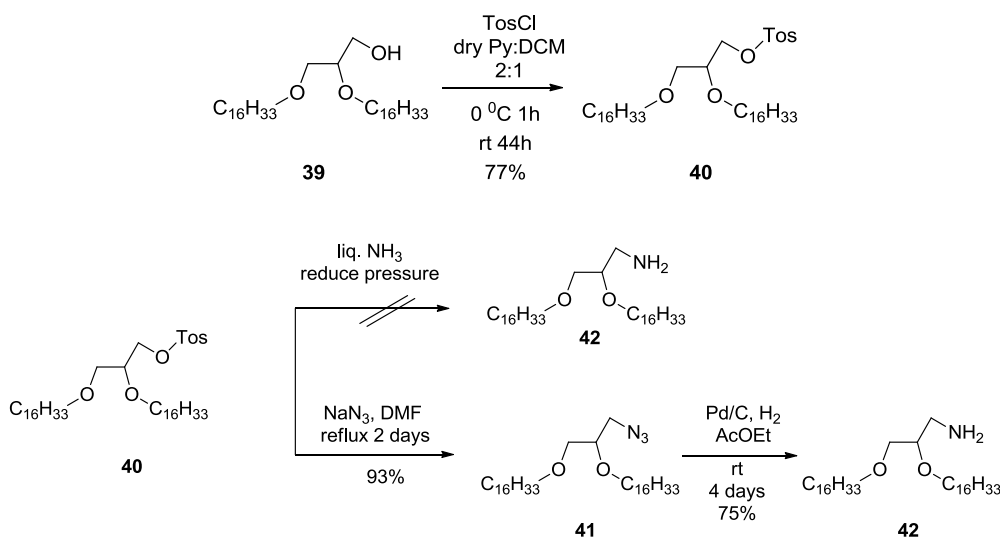
²⁰ M. Kates, T. H. Chan, N. Z. Stanacev *Biochemistry* **1963**, *2*, 394.

²¹ R. J. Howe, T. Malkin *J. Chem. Soc.* **1951**, 2663.



Schema 15.

Alcolul **39** a fost reactionat cu clorura de tosil obtinandu-se derivatul **40**. Pentru derivatul ditosilat s-a incercat transformarea directa in amina **42** in metanol cu amoniac lichid la temperatura scazuta si presiune²², reactie nereusita. Formarea aminei s-a realizat printr-o reactie intermediara, obtinandu-se azida **41** convertita mai apoi in mediu de hidrogen la amina **42**^{23,139a}, schema 16.



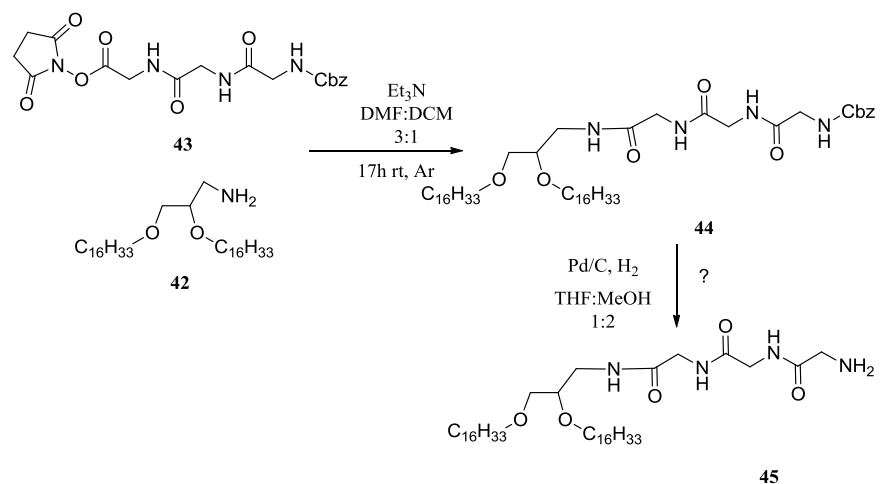
Schema 16.

Amina **42** s-a acilat in randamente bune cu succinatul benziloxycarbonil triglicinic comercial **43** folosind trietilamina ca baza²⁴. Pentru derivatul Cbz protejat **44** s-a incercat reducerea la amina **45** intr-un reactor sub presiune de hidrogen, schema 17. Randamentul reactiei a fost mai mic decat s-a asteptat, o explicatie ar fi ancorarea derivatului deprotejat pe carbunele din catalizatorul Pd/C.

²² (a) S. Bhattacharya, P.V. Dileep *Tetrahedron Letters* **1999**, *40*, 8167; (b) I. A. Godunov, A. V. Abramnikov, V. A. Bataev, V. I. Pupysev *Russian Chemical Bulletin* **1999**, *48*, 1369; (c) O. Seitz, I. Heinemann, A. Mattes, H. Waldmann *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4365.

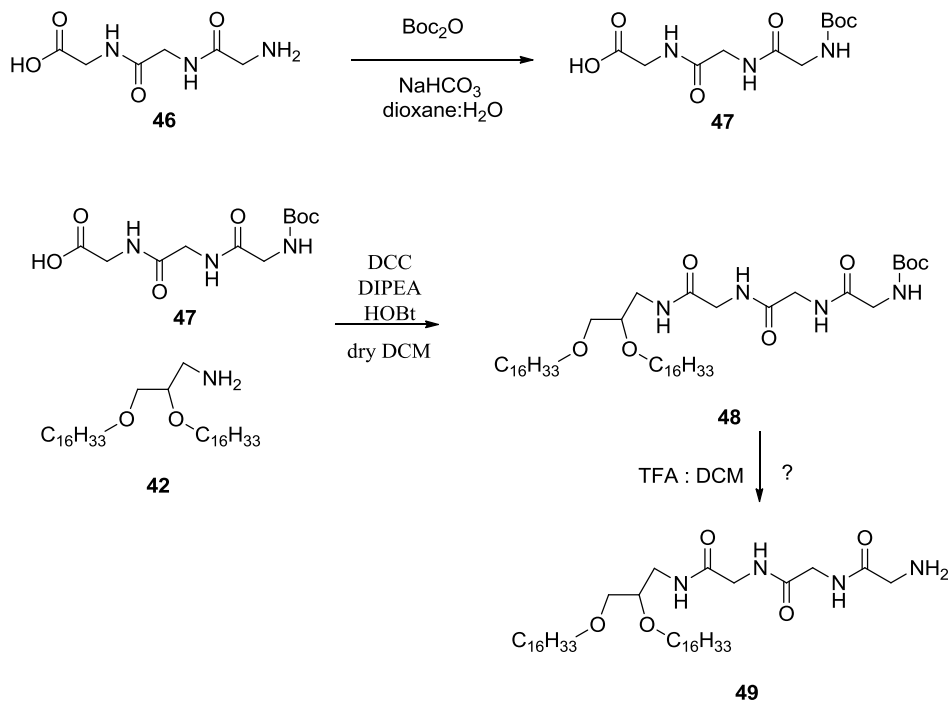
²³ (a) N. Madhavan, E. C. Robert, M. S. Gin *Angew. Int. Ed.* **2005**, 7584; (b) C. D. Pointer-Keenan, D.-K. Lee, K. Hallock, A. M. Tan, R. Zand, A. Ramamoorthy *Chem. Phys. Lip.* **2004**, *127*, 47.

²⁴ N. Kameta, G. Mizuno, M. Masuda, H. Minamikawa, M. Kogiso, T. Shimizu *Chemistry Letters* **2007**, *36*, 896.



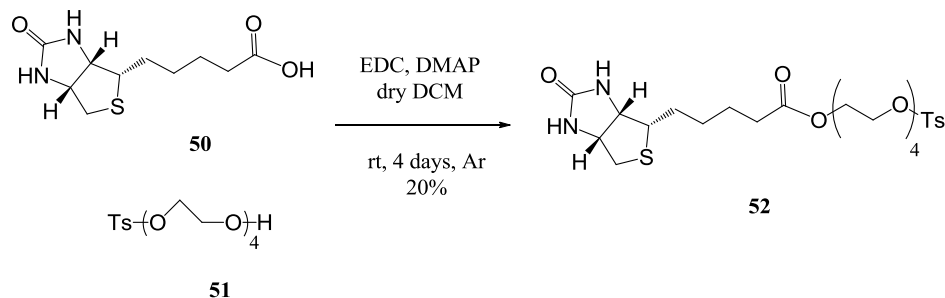
Schema 17.

Datorita randamentului scazut al reactiei de deprotezare am schimbat strategia de reactie a oligopeptidei-“punii de legatura”. Derivatul comercial GlyGlyGly a fost protejat la gruparea aminica cu di-*tert*-butil dicarbonat obtinandu-se **47** reactionat mai departe cu amina **42** obtinandu-se compusul de cuplare **48**. Reactia de deprotezare s-a realizat intr-un amestec de diclorometan si TFA dar ranalizele pentru produsul deprotezat **49** nu s-au efectuat inca, schema 18.



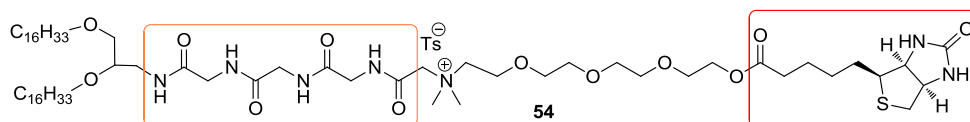
Schema 18.

Tetraetileneglicolul **52** cu biotina ca grupare de recunoastere s-a sintetizat din biotina **50** si tetraetileneglicolul monotosilat in DCM anhidru utilizand EDC si DMAP ca si reactanti tipici pentru astfel de reactii, schema 19.



Schema 19.

Ultimii doi pasi in sinteza lipidei amfilice finale, schema 20 ar fii reactia triglicinei **49** cu dimetilamino-glicina obtinandu-se derivatul **53** care urmeaza a fi reactionat cu derivatul biotinic **52** obtinandu-se molecula tinta **54**. Acesti ultimi doi pasi se vor realiza in viitorul apropiat.



Schema 20.

Compusul **54** cu o punte de legatura tetraglicinica s-a propus in vederea formarii de sisteme lipozomale specifice de transport incarcate cu substanta activa si utilizarea acestora in domenii ca biologie/farmacologie unde aceasta unitate tetraglicinica s-ar putea cliva.

2.3.4. Concluzii

In vederea sintezei lipidei amfilice **54** s-au sintetizat si analizat prin spectroscopie RMN, spectrometrie de masa doi noi precursori **44** si **48**.

Pentru compusul tinta **54** cu tetraglicina ca punte de legatura se va analiza capacitatea acestuia de incapsulare a medicamentelor si eliberarea acestora prin desfacerea puntii de legatura, respectiv ruperea unitati tetraglicinice.