

**MINISTERUL EDUCAȚIEI,
CULTURII ȘI CERCETĂRII AL REPUBLICII MOLDOVA
INSTITUTUL DE CHIMIE**

Cu titlu de manuscris
C.Z.U: 577./:547.597(043.3)

MORARESCU OLGA

**TRANSFORMĂRI SINTETICE ALE ACIZILOR *ENT-KAUR-16-
EN-19-OIC* ȘI *ENT-TRACHIOBAN-19-OIC***

**143.04 – CHIMIE BIOORGANICĂ, CHIMIA COMPUȘILOR NATURALI
ȘI FIZIOLOGIC ACTIVI**

Autoreferatul tezei de doctor în științe chimice

CHIȘINĂU, 2019

Teza a fost elaborată în laboratorul „*Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi*” al Institutului de Chimie

Conducător științific:

UNGUR Nicon, doctor habilitat în științe chimice, conferențiar cercetător, specialitățile: *143.01 chimie organică; 143.04 – chimie bioorganică, chimia compușilor naturali și fiziologic activi*

Referenți oficiali:

BOBEICO Valentin, doctor habilitat în științe chimice, profesor universitar, Universitatea de Stat din Moldova

CIOCÂRLAN Alexandru, doctor în științe chimice, conferențiar cercetător, Universitatea de Stat „Dimitrie Cantemir”

Componenta consiliului științific specializat:

ARÎCU Aculina (*președinte*), doctor habilitat în științe chimice, conferențiar cercetător, Institutul de Chimie

GORINCIOI Elena (*secretar științific*), doctor în științe chimice, conferențiar universitar, Institutul de Chimie

MACAEV Fliur (*membre*), doctor habilitat în științe chimice, profesor cercetător, Institutul de Chimie

ZADOROJNĂI Larisa (*membre*), doctor în științe chimice, conferențiar universitar, Universitatea Tehnică a Moldovei

DRAGALINA Galina (*membre*), doctor în științe chimice, conferențiar universitar, Universitatea de Stat din Moldova

Susținerea va avea loc la 04 aprilie 2019, ora 12.00, în ședința Consiliului științific specializat ad-hoc D 143.04-03, din cadrul Institutului de Chimie, str. Academiei 3, Chișinău, Republica Moldova MD-2028.

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la Biblioteca Științifică Centrală „Andrei Lupan” și la pagina web a ANACEC (www.cnaa.md). Autoreferatul a fost expediat la 01.03.2019.

Secretar științific al Consiliului științific specializat,

GORINCIOI Elena, dr. în șt. chimice, conf. univ. _____

Conducător științific,

UNGUR Nicon, dr. hab. în șt. chimice, conf. cerc. _____

Autor,

MORARESCU Olga _____

(© MORARESCU OLGA, 2019)

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei, descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor de cercetare. Terpenoidele reprezintă cea mai numeroasă și mai diversă clasă de substanțe chimice din multitudinea compușilor produși de plante. Derivații terpenici au funcții de bază, participând activ la creșterea, dezvoltarea și protecția plantei, dar totodată, majoritatea terpenoidelor participă și în interacțiuni chimice mai specifice. În mod tradițional, terpenoidele au fost folosite în industria alimentară, farmaceutică și cosmetică, în industria chimică.

Este bine cunoscută relația strânsă structură - activitate biologică specifică compușilor naturali. Astfel, modificarea terpenoidelor introducând diferite grupe farmacofore sau prin intervenții la nivel de schelet, influențează foarte puternic activitatea biologică a acestor compuși. Din acest motiv, transformarea chimică a substanțelor naturale relativ abundente este o direcție importantă și promițătoare a chimiei și constituie, în prezent, subiectul a numeroase investigații *teoretice* și *aplicative*, iar sinteza, izolarea și studiul acestora reprezintă o problemă de importanță *fundamentală* și *aplicativă* majoră.

Din gama vastă a compușilor terpenici, un interes deosebit îl prezintă diterpenoidele tetraciclice *ent*-kauranice și pentaciclice *ent*-trachilobanice, compuși ce posedă un spectru larg de activități biologice și pot servi ca precursori în sinteza terpenoidelor polifuncționale. Compușii *ent*-kauranici joacă un rol important în biosinteza giberelinelor – importanți regulatori de creștere ai plantelor. În ultimii ani s-a observat un interes sporit asupra diterpenoidelor respective, datorită potențialului înalt de aplicare, în special în domeniul farmacologic. Studiul diferitor plante, utilizate în medicina populară, a demonstrat că activitatea antimicrobiană, antiinflamatoare, cardio-vasculară, diuretică, citotoxică și contra SIDA în mare parte se datorează prezenței diterpenoidelor *ent*-kauranice. Compușii *ent*-trachilobanici sunt metaboliți secundari mai rar întâlniți în natură și bioactivitatea acestora este mai slab studiată, totuși, se disting reprezentanți cu proprietăți antibacteriene, antifungice, repelente și chiar citotoxice. Totodată, terpenoidele *ent*-trachilobanice reprezintă precursori biomimetici valoroși în sinteza altor diterpenoide tetraciclice.

Diterpenoidele respective au fost izolate din diferite surse vegetale, în special, din plante originare din Asia și America de Sud. Un loc aparte îi revine florii-soarelui (*Helianthus annuus* L.), în care conținutul de *ent*-kaurani și *ent*-trachilobani este net superior altor surse vegetale, un factor important fiind și accesibilitatea plantei. Floarea-soarelui este cultivată la scară industrială, deșeurile ei reprezentând o sursă ieftină de materie primă, iar obținerea acestor compuși diterpenici nu afectează sub nici o formă producția de ulei. Astfel, reprezentații de bază ai acestei clase, acizii *ent*-trachiloban-19-oic, *ent*-kaur-16-en-19-oic și 15α -angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic,

compuși biologic activi, pot fi izolați în cantități sporite din deșeurile provenite de la recoltarea florii-soarelui.

Scopul tezei constă în izolarea diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice biologic active din deșeurile provenite de la recoltarea florii-soarelui, și utilizarea acestora în calitate de materie primă pentru obținerea altor compuși diterpenici naturali bioactivi și a unor compuși sintetici cu potențial sporit de activitate biologică.

Obiectivele generale urmărite în cadrul cercetărilor descrise în teză sunt următoarele:

- Identificarea solventului optim pentru extracția diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice din deșeurile uscate provenite de la prelucrarea florii-soarelui;
- Studiul reacției de izomerizare superacidă a acizilor *ent*-kaur-16-en-19-oic și *ent*-trachiloban-19-oic, izolarea și caracterizarea compușilor obținuți prin metode fizico-chimice de analiză;
- Funcționalizare oxidativă a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic în centrele C-15, C-16, și C-17, izolarea și studiul derivaților *ent*-kauranici obținuți;
- Polifuncționalizarea acizilor *ent*-trachiloban-19-oic și *ent*-kaur-16-en-19-oic în prezența sistemelor de diacetat de iodobenzen – bromură de litiu ($\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$) și/sau periodat de sodiu – bromură de litiu ($\text{NaIO}_4 - \text{LiBr}$).

Noutatea și originalitatea științifică, semnificația teoretică. Pentru prima dată a fost propusă o concepție nouă de sinteză a compușilor naturali - metoda *retro*-biomimetică. În baza acestui concept a fost realizată diversificarea structurală a compușilor și a fost demonstrată convergența scheletelor *ent*-trachilobanic și *ent*-kauranic în compuși biogenetic înrudiți – diterpenoidele *ent*-atisanice și *ent*-beieranice.

Funcționalizarea oxidativă reprezintă o cale de a modula proprietățile compușilor studiați prin diversificarea grupelor funcționale. Sistemele oxidative utilizate, inclusiv în baza iodului hipervalent, prezintă un potențial relevant în acest context, care poate fi explorat în continuare. Astfel, pentru prima dată s-a realizat funcționalizarea acidului *ent*-trachiloban-19-oic cu sistemul $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$, obținându-se cu un randament considerabil un compus regrupat cu schelet *ent*-kauranic. A fost efectuată funcționalizarea oxidativă a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic natural în pozițiile C-15, C-16, și C-17, fiind obținuți o serie de derivați *ent*-kauranici naturali biologic activi. S-a realizat pentru prima dată funcționalizarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic cu sistemele $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$ și/sau $\text{NaIO}_4 - \text{LiBr}$.

Problema științifică soluționată constă în identificarea unor căi noi și interesante de sinteză a unor compuși diterpenici naturali biologic activi cu pondere joasă în sursele naturale, cât și obținerea derivaților sintetici noi cu potențial sporit de activitate biologică.

Valoarea aplicativă a lucrării. Un aspect important al lucrării îl constituie folosirea deșeurilor de la procesarea florii-soarelui, în scopul obținerii substanțelor cu valoare practică. În

acest context, valoarea aplicativă a lucrării este de o relevanță economică și socială deosebită, mai ales la nivel local. Astfel a fost elaborată o metodă eficientă și sigură de extracție cu etanol a deșeurilor provenite de la recoltarea florii-soarelui. Solventul propus a demonstrat calități extractive înalte, fiind avantajos din punct de vedere financiar și al aplicabilității. De asemenea, funcționalizarea derivaților *ent*-kaurenoici și *ent*-trachilobanoic prezintă un interes practic deosebit, deoarece ne oferă o cale eficace de acumulare a compușilor naturali bioactivi, în particular, a compușilor *ent*-atisanici.

Metodologia cercetării științifice. Cercetările efectuate în cadrul tezei date au la bază metodele bine cunoscute ale chimiei organice fine, care includ efectuarea sintezei, izolarea produșilor de reacție și identificarea structurii acestora cu ajutorul metodelor fizico-chimice moderne de analiză. Dintre acestea putem menționa: spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (pe nucleele 1H și ^{13}C ; tehnici 1D și 2D), spectroscopia în infraroșu și spectrometrie de masă, cromatografia de gaze cuplată cu spectrometria de masă.

Rezultate științifice principale înaintate spre susținere:

- Elaborarea unei metode eficiente de izolare a acizilor *ent*-kaur-16-en-19-oic, *ent*-trachiloban-19-oic și *15α*-angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic, din deșeurile provenite de la recoltarea florii-soarelui (*Helianthus annuus* L.) și identificarea solventului de extracție optim.
- Sinteza *retro*-biomimetică a diterpenoidelor naturale cu schelet *ent*-kauranic, *ent*-atisanic și *ent*-beieranic, componente bioactive ale plantelor, pornind de la acizii *ent*-kaur-16-en-19-oic și *ent*-trachiloban-19-oic accesibili.
- Polifuncționalizarea acidului *ent*-trachiloban-19-oic în prezența $PhI(OAc)_2$ și LiBr, cu obținerea unor compușilor noi, cu schelete regrupate *ent*-kauranic și *ent*-atisanic, funcționalizați în centre greu accesibile.
- Funcționalizarea oxidativă a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic în pozițiile C-15, C-16, și C-17, cu obținerea derivaților *ent*-kauranici naturali și sintetici cu potențial sporit de bioactivitate.
- Polifuncționalizarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic în prezență de $PhI(OAc)_2$ – LiBr și $NaIO_4$ – LiBr, cu obținerea compușilor *ent*-kauranici noi cu potențial sporit de bioactivitate.

Implementarea rezultatelor științifice. Procesul optimizat de extracție a deșeurilor provenite de la procesarea florii-soarelui este pe larg utilizat în cadrul laboratorului *Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi*, Institutul de Chimie. Acizii diterpenici obținuți prin această metodă servesc ca materie primă în diverse studii de sinteză. De asemenea, materialul prezentat în teza curentă este inclus în ciclul de prelegeri “Sinteza dirijată a unor terpenoide cu activitate biologică”, treapta de masterat la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică a Universității de Stat din Moldova.

Aprobarea rezultatelor. Materialul inclus în lucrare a fost prezentat și discutat la diverse evenimente științifice naționale și internaționale: Simpozionul „*Advanced Science in Organic Chemistry*”, Ucraina, Mishor: 21 – 25.06.2010; A XXXI-a Conferință Națională de Chimie, România, Căciulata – Călimănești: 6 – 8.10.2010; Conferința Internațională a Tinerilor Cercetători, ediția VIII-a, R. Moldova, Chișinău: 11.11.2010; Simpozion Național PRIOCHEM - ediția a VII-a. România, București: 27 – 28.10.2011; Conferința Internațională a Tinerilor Cercetători, ediția X-a, R. Moldova, Chișinău: 23.11.2012; The International Conference dedicated to the 55th anniversary of the Academy of Sciences of Moldova, Chișinău: 28 – 30.05.2014; The XVIII-th International Conference "*Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry*", R. Moldova, Chișinău: 8 – 9.10.2015.

Publicații la tema tezei. Rezultatele obținute constituie subiectul a 13 lucrări științifice: 5 articole, unul fiind publicat într-o revistă internațională cotate ISI, 8 comunicări la conferințe și simpozioane naționale și internaționale. Trei lucrări sunt semnate de un singur autor.

Cuvinte-cheie: diterpenoide, compuși biologic activi, acid *ent*-kaur-16-en-19-oic, acid *ent*-trachiloban-19-oic, izomerizare, *retro*-biomimetic, *ent*-atisani, oxidare.

Conținutul tezei. Lucrarea este structurată în trei capitole principale, în care sunt prezentate datele din literatură și contribuțiile proprii, ce constau din rezultate obținute experimental, concluzii generale și recomandări.

1. DITERPENOIDELE *ENT*-KAURANICE ȘI *ENT*-TRACHIOBANICE – CARACTERISTICA GENERALĂ

Capitolul dat include studiul literaturii de specialitate și evidențierea principalelor direcții de cercetare ale chimiei diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice: izolarea, diversitatea compușilor naturali biologic activi și potențialul sintetic al diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice, punându-se accent pe acizii *ent*-kaur-16-en-19-oic și *ent*-trachiloban-19-oic. Unele rezultate, ce țin de transformările sintetice ale acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic, au fost publicate sub forma unui articol de sinteză [1].

2. TRANSFORMĂRI SINTETICE ALE ACIDULUI *ENT*-TRACHIOBAN-19-OIC

Compușii *ent*-trachilobanici sunt metaboliți secundari mai rar întâlniți în natură. Chiar și așa, acidul *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) este relativ abundent și datorită structurii sale pentaciclice reprezintă o bază atractivă în sinteza diferitor derivați diterpenici, reprezentativi fiind produșii regrupați. Astfel, în aspect sintetic acidul **1**, datorită structurii sale și specificului biogenetic, reprezintă un substrat interesant și accesibil pentru sinteza diterpenoidelor polifuncționale cu potențial sporit de bioactivitate.

2.1. Izolarea diterpenoidelor *ent*-trachilobanice și *ent*-kauranice din deșeurile de floarea-soarelui

Diterpenoidele *ent*-trachilobanice și *ent*-kauranice sunt componente bioactive importante ce rezultă dintr-un precursor biogenetic comun, cu toate acestea, conform datelor literare, există doar două surse vegetale în care acizii **1** și **2** se regăsesc în comun: *Trachylobium verrucosum* și *Helianthus annuus* L. Floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L) este o cultură pe larg cultivată în Republica Moldova, iar acizii *ent*-trachiloban-19-oic (**1**), *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) și 15α -angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**3**) (Figura 2.1) au fost izolați din deșeurile provenite de la recoltarea acesteia.

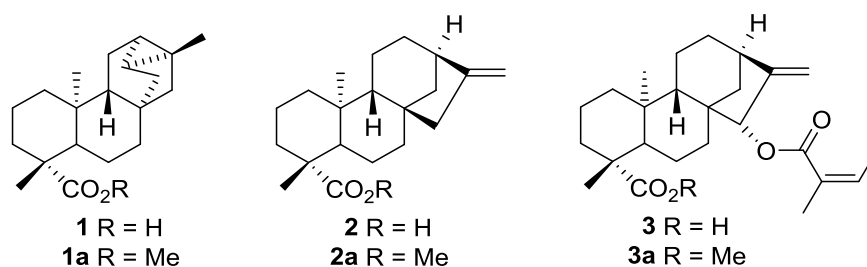


Fig. 2.1. Acizii *ent*-trachiloban-19-oic (**1**), *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**), 15α -angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**3**) și esterii metilici respectivi **1a** – **3a**.

Materia primă, alcătuită din tulpini și inflorescențe de floarea-soarelui, uscate și în prealabil mărunțite, a fost supusă extracției cu eter etilic într-un extractor de tip Soxhlet. Temperatura de fierbere joasă a solventului, proprietățile aprotice și calitățile extractive înalte, vin să reducă la minimum posibilitatea de izomerizare a diterpenoidelor *ent*-kaurenice și *ent*-trachilobanice sub acțiunea speciilor cu caracter acid prezente în sursa vegetală. Tratarea concretului cu soluție de 5% de KOH reprezintă o cale de acumulare a compușilor de interes în partea acidă a extractului.

Parte acidă este apoi supusă cromatografiei pe coloană cu silicagel, fiind eluate două fracții. Prima fracție este formată din amestecul de acizi izomeri *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) și *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**), izolați cu un randament de 35%, iar a doua fracție include derivatul C_{15} funcționalizat al acidului *ent*-kaurenice, acidul 15α -angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**3**) obținut cu un randament de 17%.

Datorită proprietăților cromatografice similare, separarea amestecului de acizi izomeri **1** și **2** a fost posibilă doar prin cromatografie pe coloană cu silicagel impregnat cu nitrat de argint. Raportul acizilor *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) și *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) izolați din extract este de circa 2:7. Structura acizilor **1** și **2** a fost confirmată prin compararea datelor spectrale și fizico-chimice cu cele disponibile în literatura de specialitate.

Astfel, a fost efectuată extracția deșeurilor de floarea-soarelui și izolarea cromatografică a acizilor *ent*-trachiloban-19-oic (**1**), *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) și 15 α -angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**3**) - compuși naturali importanți ce manifestă o gamă largă de activități biologice, conform datelor literare.

2.1.1. Studiul procesului de extracție a deșeurilor de floarea-soarelui cu diferiți solvenți

Diterpenoidele *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice reprezintă compuși valoroși din punct de vedere al activității biologice, cât și sintetic. În direcția optimizării procesului de extracție al acestora din deșeurile de floarea-soarelui s-a efectuat un studiu de extracție cu diferiți solvenți. Eterul etilic are o putere extractivă înaltă, dar totodată, este un solvent ușor inflamabil și volatil, ceea ce a direcționat cercetările spre alți solvenți, mai siguri din punct de vedere tehnologic. Astfel, luând în calcul datele literare, cât și unele considerații proprii, studiul extracției deșeurilor de floarea-soarelui a fost efectuat folosind în calitate de solvenți: eter de petrol, diclorometan, acetonă, etanol și toluen [2].

Tabelul 2.1. Conținutul relativ al esterilor metilici **1a** – **3a**.

No	Solvent*	Masă extract** (g)	Parte acidă (g)	Conținutul relativ al esterilor metilici*** (%)		
				Metil <i>ent</i> -trachiloban-19-oat (1a)	Metil <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oat (2a)	Metil 15 α -angeloil- <i>ent</i> -kaur-16-en-19-oat (3a)
1	Eter de petrol	1.583	0.839	1.0	0.8	0
2	Diclorometan	2.572	1.126	2.0	12.0	0
3	Acetonă	3.138	1.568	4.0	17.0	0.5
4	Etanol	5.043	2.571	6.0	21.0	1.0
5	Toluen	2.820	1.466	5.0	17.0	0.5
6	Eter etilic	5.082	2.592	8.0	22.0	0.5

* A fost utilizat un volum de 750 mL de solvent;

** Greutatea extractului obținut din 100 g din deșeurile uscate de floarea-soarelui;

*** Determinat în baza datelor GC-MS.

În toate cazurile, aceiași cantitate de material vegetal uscat a fost extrasă cu un volum identic de solvent. Extracțiile au fost efectuate în extractor de tip Soxhlet, în 10 cicluri consecutive. După îndepărtarea solventului toate extractele brute au fost cântărite și împărțite în

fracții neutre și acide. Apoi, fracțiile acide, provenite de la fiecare extracție, au fost tratate cu diazometan, generând esterii metilici respectivi **1a** – **3a** (Figura 2.1). Identificarea și cuantificarea componentelor s-a efectuat cu ajutorul cromatografiei de gaze (GC-MS). Extractul cu eter etilic a fost utilizat în calitate de referință (Tabelul 2.1).

Conform datelor obținute (Tabelul 2.1), componenta predominantă a tuturor extractelor este acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**). Extractele obținute cu eter etilic și etanol au cel mai înalt conținut de acid **2**, 22% și 21% respectiv, iar eterul de petrol manifestă proprietăți extractive relativ joase. Cantitatea maximă de acid *15α*-angeloil-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**3**) a fost extrasă cu etanol (1%), în timp ce, conținutul cel mai înalt de acid *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) rămâne a fi extras cu eter etilic (8%) [2].

Luând în calcul rezultatele prezentate în Tabelul 2.1, etanolul este recomandat pentru o extracție eficientă a diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice, fiind un solvent ecologic și industrial aplicabil.

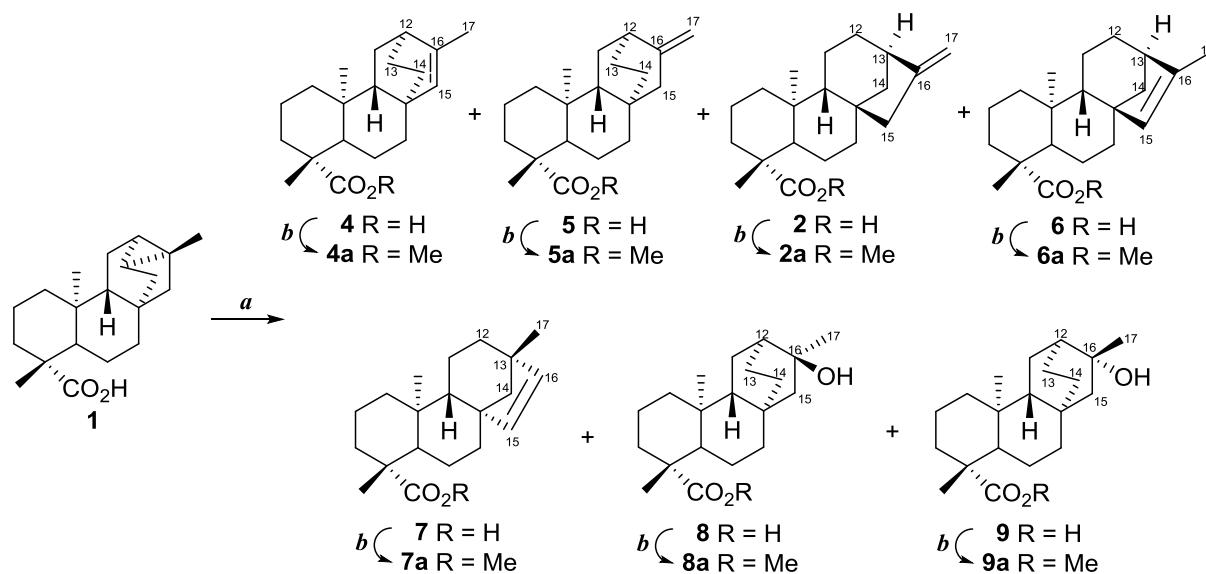
2.2. Izomerizarea superacidă a acidului *ent*-trachiloban-19-oic. Sinteza *retro*-biomimetică a diterpenoidelor naturale *ent*-kauranice, *ent*-atisanice și *ent*-beieranice.

Diterpenoidele tetraciclice *ent*-atisanice, *ent*-beieranice, *ent*-kauranice și cele pentaciclice *ent*-trachilobanice reprezintă un grup important de diterpenoide policiclice biogenetic strâns legate între ele, multe dintre care prezintă o gamă largă de activități biologice. Toate aceste diterpenoide au o structură complexă și sinteza lor reprezintă o provocare de loc facilă. Numărul sintezelor totale raportate ale diterpenoidelor beieranice și atisanice este mic, iar performanța lor generală este relativ joasă. O altă cale ar fi sinteza parțială a acestora, în baza transformărilor biomimetice ale diterpenoidelor naturale disponibile, cum ar fi cele trachilobanice sau kauranice. Aceste abordări s-au dovedit a fi mai eficiente, atât din punct de vedere al complexității, cât și a randamentului total.

În baza ideilor de mai sus, a fost dezvoltată o cale semi-sintetică de obținere a compușilor biogenetic apropiați reieșind din acidul *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) (vezi subcapitolul 2.1). Această abordare este foarte simplă și implică izomerizarea substratului într-o singură etapă cu obținerea produșilor scontați pe cale *retro*-biomimetică. Procesul are loc sub acțiunea superacizilor, aceștia fiind promotori eficienți în ciclizarea terpenoidelor și în regrupări.

Astfel, tratarea acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) cu exces de acid fluorosulfonic (5 eq.) în condiții blânde (-60 °C), a permis obținerea unor compuși cu schelet regrupat [3 – 6]. Produsul de reacție brut a fost separat cromatografic, pe coloană cu silicagel, în două fracții cu compuși nepolari și compuși polari. Frația nepolară a fost cromatografiată pe coloană cu silicagel impregnat cu nitrat de argint. Eluarea în gradient cu benzen – benzen/acetat de etil a

permis izolarea unei serii de compuși izomeri. În ordinea creșterii polarității au fost izolați următorii compuși: acizii *ent*-atisenici - *ent*-atis-15-en-19-oic (**4**; 12%) și *ent*-atis-16-en-19-oic (**5**; 22%); acizii *ent*-kaurenici - *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**, 3%), *ent*-kaur-15-en-19-oic (**6**; 1%); și în final, acidul *ent*-beier-15-en-19-oic (**7**; 2%) (Figura 2.3).



Reagenți și condiții: (a) FSO₃H (5 eq.), *i*-PrNO₂/CH₂Cl₂, -60 °C, 15 min; (b) CH₂N₂, Et₂O, 30 min.

Fig. 2.3. Schema reacției de izomerizare superacidă a acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**).

Structurile produșilor izolați au fost stabilite în baza datelor spectrale și prin corelare chimică. Tratarea acizilor individuali, **2**, **4** – **7**, cu soluție eterică de diazometan a condus la obținerea cu randamente cantitative a esterilor metilici corespunzători: *ent*-kaur-16-en-19-oat de metil (**2a**), *ent*-atis-15-en-19-oat de metil (**4a**), *ent*-atis-16-en-19-oat de metil (**5a**), *ent*-kaur-15-en-19-oat de metil (**6a**) și *ent*-beier-15-en-19-oat de metil (**7a**) (Figura 2.3).

Fracția polară a fost recromatografiată pe coloană cu silicagel, obținându-se doi derivați hidroxilici izomeri, cu schelet atisanic, (16 β)-16-hidroxi-*ent*-atisan-19-oic (**8**; 23%) și (16 α)-16-hidroxi-*ent*-atisan-19-oic (**9**; 16%) (Figura 2.3). Structurile produșilor izolați au fost stabilite în baza datelor spectrale și prin corelare chimică. Tratarea hidroxiacizilor cu soluție eterică de diazometan a condus cu randamente cantitative la esterii metilici corespunzători **8a** și **9a** (Figura 2.3).

Conform ultimelor studii cunoscute, ce țin de biosinteza compușilor dați, transformarea acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) în compuși de tip atisanic are loc prin intermediul carbocationului beieranil **A**, care, suferind o serie de migrări, generează carbocationul *ent*-atisanil **D** (**A** → **B** → **D**) (Figura 2.4). Ruperea protonului din pozițiile C₁₅ sau C₁₇, conduce la formarea legăturii duble izomere în acizii *ent*-atisenoici **4** și **5**. Compușii hidroxilați **8** și **9** se formează la interacțiunea carbocationului **D** cu o moleculă de apă. Acizii *ent*-kaurenici sunt

generați pe calea $A \rightarrow C$, ca urmare a migrării grupei alchil din poziția C_{13} în C_{16} . La pierderea unui proton din C_{15} sau din C_{17} respectiv, carbocationul primar *ent*-kaurenil **C** generează acizii *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) și *ent*-kaur-15-en-19-oic (**6**). Acidul *ent*-beier-15-en-19-oic (**7**) provine direct din carbocationul **A**, la ruperea unui proton din centrul C_{15} .

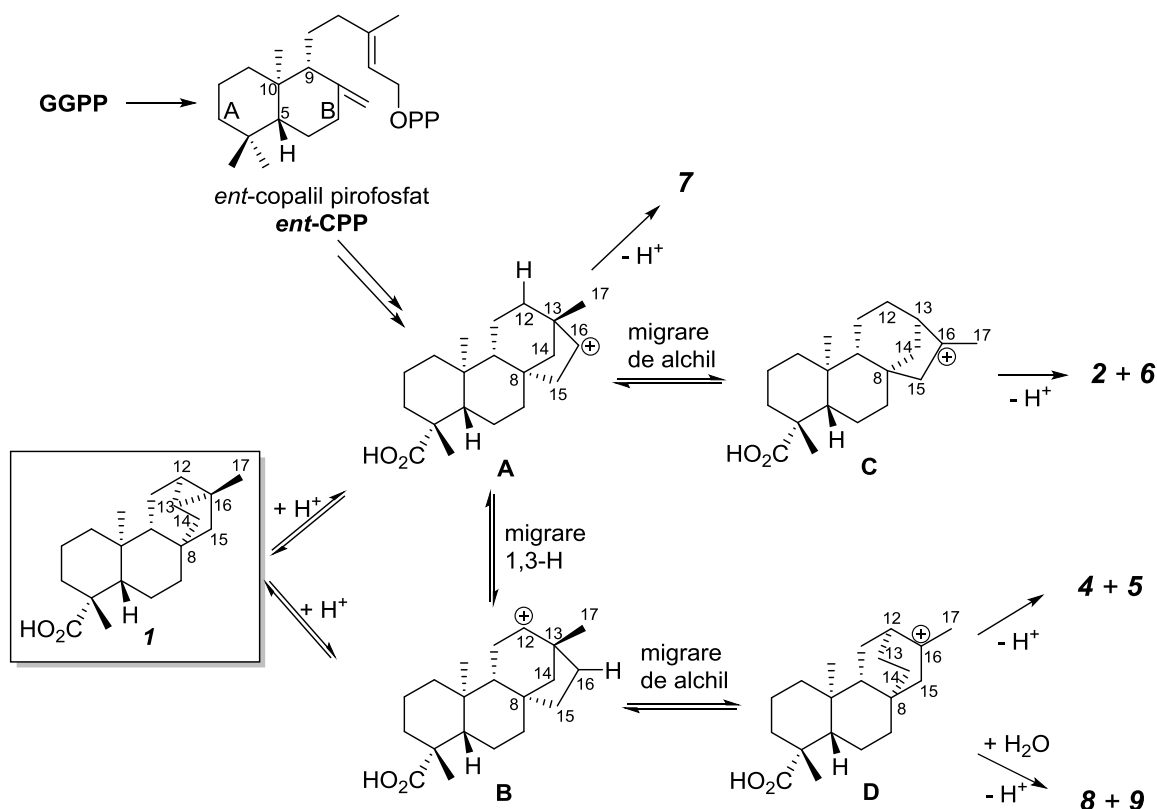


Fig. 2.4. Mecanismul propus al transformării *retro*-biomimetice a acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**).

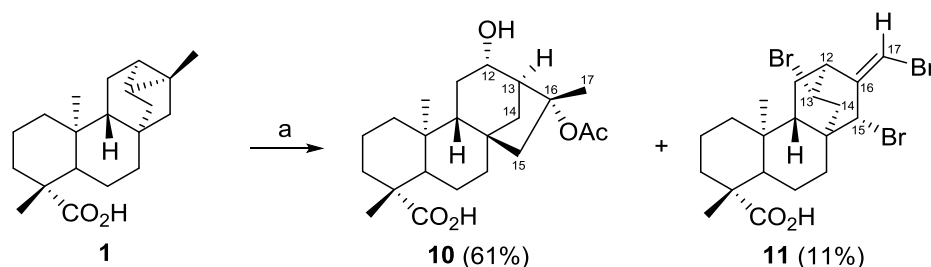
Astfel, izomerizarea superacidă al acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) generează o serie de diterpenoide naturale, predominând cele *ent*-atisanice (~73%), compuși cu activitate citotoxică, conform datelor literare.

2.3. Funcționalizarea acidului *ent*-trachiloban-19-oic cu diacetat de iodobenzen și bromură de litiu ($\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$)

Dacă privim inelul ciclopropanic din componența scheletului *ent*-trachilobanic, drept centru reactiv asemănător legăturii duble, o direcție interesantă ar fi oxidarea acestuia, ceea ce este echivalent cu scindarea inelului și obținerea unor compuși regrupați cu un grad de funcționalizare mai ridicat. În această direcție, având ca punct de pornire oxidarea legăturii duble, dihidroxilarea ar fi o cale de funcționalizare interesantă.

Astfel, acidul *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) a fost tratat cu $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ și LiBr , în mediu de acid acetic, la temperatura de 95 °C. După 18 ore produsul de reacție, ce reprezintă un amestec

complex, a fost supus cromatografiei pe coloană. Eluarea în gradient cu eter de petrol – eter de petrol/acetat de etil a permis izolarea a doi compuși funcționalizați cu schelete regrupate, compusul majoritar scontat, acidul (12 β)-12-hidroxi-16 α -acetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**10**) și compusul minor, acidul (13 β , 15 β)-13,15,17-tribromo-*ent*-atis-16 Z -en-19-oic (**11**), neraportați anterior (Figura 2.5) [7].



Reagenți și condiții: (a) $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (1 eq.), LiBr (20 mol%), AcOH , 95 °C, 18 ore.

Fig. 2.5. Schema reacției acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) cu $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$.

Transformarea dată uimește prin selectivitate înaltă, derivatul *ent*-kauranoic fiind obținut cu un randament de circa 60%. Acest fenomen nu este caracteristic reacțiilor de izomerizare, reacția dată prezentând un interes deosebit din punct de vedere sintetic. Structurile compușilor izolați au fost stabilite în baza datelor spectrale. Datorită gradului înalt de funcționalizare compușii dați prezintă un potențial sporit de activitate biologică, fiind incluși în studii curente ce țin de activitatea citotoxică testată pe diferite linii de celule canceroase.

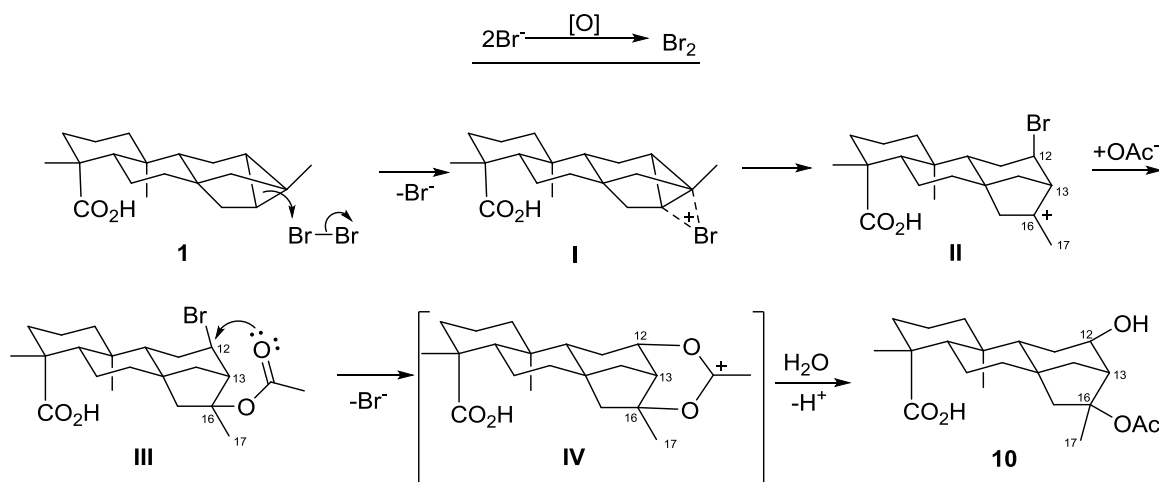


Fig. 2.15. Mecanismul propus de obținere a compusului (12 β)-12-hidroxi-16 α -acetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**10**).

Dacă e să ne referim la o posibilă cale de formare a compusului majoritar **10**, scindarea inelului ciclopropanic în acidul *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) are loc pe centrele C₁₂-C₁₆, generând scheletul *ent*-kauranic. După cum s-a menționat mai sus, acidul **10** practic reprezintă un produs de reacție scontat, conform metodicii de dihidroxilare a alchenelor catalizată de LiBr în AcOH ,

mediată de un oxidant, în cazul dat $\text{PhI}(\text{OAc})_2$. Conform ciclului catalitic propus, molecula de Br_2 , generată *in situ* la oxidarea LiBr , conduce rapid la bromoacetoxilarea substratului prin intermediul ionului de bromonium **I** și a carbocationului *ent*-kaurenil **II**, obținându-se produsul intermediar **III**. Acesta, în prezență de $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ și asistat de grupa acetoxi, pierde bromul și generează specia **IV**, care la interacțiunea cu un nucleofil, în cazul dat apa, conduce la derivatul *ent*-kauranic **10** (Figura 2.15).

Derivații *ent*-kauranici funcționalizați în poziția C_{12} sunt destul de rar întâlniți în natură, cel mai frecvent raportat fiind acidul 12α -hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic și o serie de derivați ai acidului grandifloric **12** (vezi cap. 3, Figura 3.3). În acest context, compușii regrupați **10** și **11**, obținuți în urma interacțiunii acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) cu $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ și LiBr , prezintă un interes deosebit.

2.4. Transformări sintetice ale acidului *ent*-trachiloban-19-oic. Partea experimentală

Acest subcapitol cuprinde descrierea aparatajului utilizat, tehnicilor de lucru și a procedurilor experimentale. De asemenea, sunt descrise caracteristicile spectrale ale compușilor izolați și sintetizați (^1H , ^{13}C RMN, IR), datele spectrometriei de masă și unele constante fizico-chimice individuale.

3. TRANSFORMĂRILE SINTETICE ALE ACIDULUI *ENT*-KAUR-16-EN-19-OIC

Transformările chimice ale substanțelor naturale, în general, și a diterpenoidelor *ent*-kauranice în particular, constituie o direcție importantă și promițătoare în chimia medicamentelor. În acest context, acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) este una dintre terpenoidele *ent*-kaurenice prezente abundant în sursele naturale, iar elaborarea metodelor de sinteză a derivaților funcționalizați ai acestuia reprezintă o cale de obținere a diterpenoidelor bioactive, inclusiv a celor naturale, care ar prezenta un interes pentru medicină și industria farmaceutică.

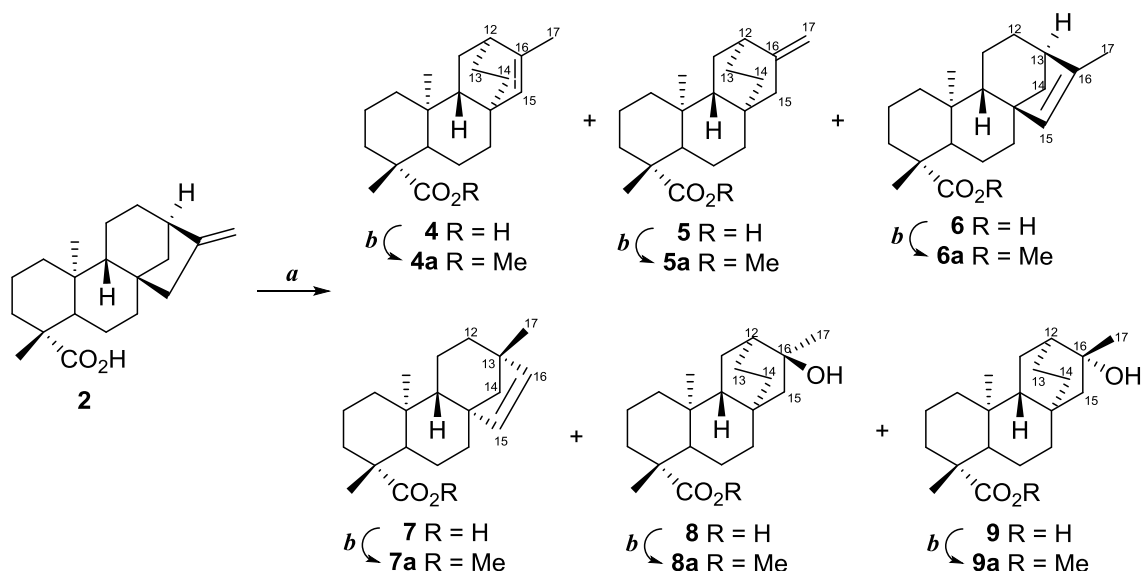
Floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L), reprezintă o sursă bogată și accesibilă de diterpenoide *ent*-kauranice, cu un conținut de 0.65% din masa uscată. Astfel, acizii *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) și angeloilgrandifloric (**3**), compuși biologic activi, au fost izolați în cantități sporite din deșeurile de floarea-soarelui printr-o metodă simplă descrisă în capitolul anterior [2] (vezi cap. 2, subcap. 2.1).

3.1. Izomerizarea superacidă a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic. Sinteza *retro*-biomimetică a diterpenoidelor naturale *ent*-kauranice, *ent*-atisanice și *ent*-beieranice.

Conform căii biogenetice de proveniență a terpenoidelor, diterpenoidele de tip beiranic, kauranic, trachilobanic și atisanic sunt strâns legate între ele. Mulți reprezentanți ai acestor clase

de diterpenoide reprezintă compuși bioactivi, dar care au o pondere joasă în sursele naturale. În acest context, sinteza *retro*-biomimetică a diterpenoidelor menționate pornind de la un reprezentant accesibil prezintă un interes deosebit.

Astfel, tratarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) cu un exces de acid fluorosulfonic (5 eq.), în condiții blânde (-60 °C), conduce la obținerea unei serii de compuși cu schelete regrupate [3, 5, 6, 8]. În urma mai multor cromatografii pe coloană, inclusiv pe silicagel impregnat cu nitrat de argint, s-a reușit izolarea următorilor compuși în ordinea creșterii polarității: acidul *ent*-atis-15-en-19-oic (**4**; 8%), acidul *ent*-atis-16-en-19-oic (**5**; 22%), compus inițial recuperat (**2**, 18%) și izomerul acestuia, acidul *ent*-kaur-15-en-19-oic (**6**; 17%), acidul *ent*-beier-15-en-19-oic (**7**; 7%), și în final, derivați hidroxilici izomeri cu schelet atisanic, acizii (16 β)-16-hidroxi-*ent*-atisan-19-oic (**8**; 5%) și (16 α)-16-hidroxi-*ent*-atisan-19-oic (**9**; 4%) (Figura 3.1).



Reagenți și condiții: (a) FSO₃H (5 eq.), *i*-PrNO₂, CH₂Cl₂, -60 °C, 15 min; (b) CH₂N₂, Et₂O, 30 min.

Fig. 3.1. Schema reacției de izomerizare superacidă a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**4**).

Structurile produșilor de sinteză au fost stabilite în baza datelor spectrale și prin corelare chimică. Tratarea acizilor individuali cu soluție eterică de diazometan a condus cantitativ la esterii metilici corespunzători: *ent*-atis-15-en-19-oat de metil (**4a**), *ent*-atis-16-en-19-oat de metil (**5a**), *ent*-kaur-15-en-19-oat de metil (**6a**), *ent*-beier-15-en-19-oat de metil (**7a**), (16 β)-16-hidroxi-*ent*-atisan-19-oat de metil (**8a**) și (16 α)-16-hidroxi-*ent*-atisan-19-oat de metil (**9a**) (Figura 3.1).

Mecanismul presupus al transformării *retro*-biomimetică a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**), ca și în cazul acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**), presupune formarea intermediarului de tip beieranic **B**. Inițial se formează carbocationul primar *ent*-kaurenil **A**, care la pierderea unui

proton din C₁₅, conduce la acidul *ent*-kaur-15-en-19-oic (**6**). Carbocationul **A**, în urma migrării grupei metil, generează carbocationul *ent*-beieranil **B**, intermediarul cheie în obținerea diterpenoidelor de tip atisanic și beieranic. Acesta, suferind o serie de migrări, generează carbocationul *ent*-atisanil **D**, care pierde un proton din pozițiile C₁₅ sau C₁₇ pentru a forma legăturile C=C izomere în moleculele acizilor *ent*-atisenici **4** și **5**. Paralel, compușii hidroxilați **8** și **9** se formează la interacțiunea carbocationului **D** cu o moleculă de apă. Acidul *ent*-beier-15-en-19-oic (**7**) se formează direct din carbocationului **B**, la ruperea unui proton din centrul C₁₅.

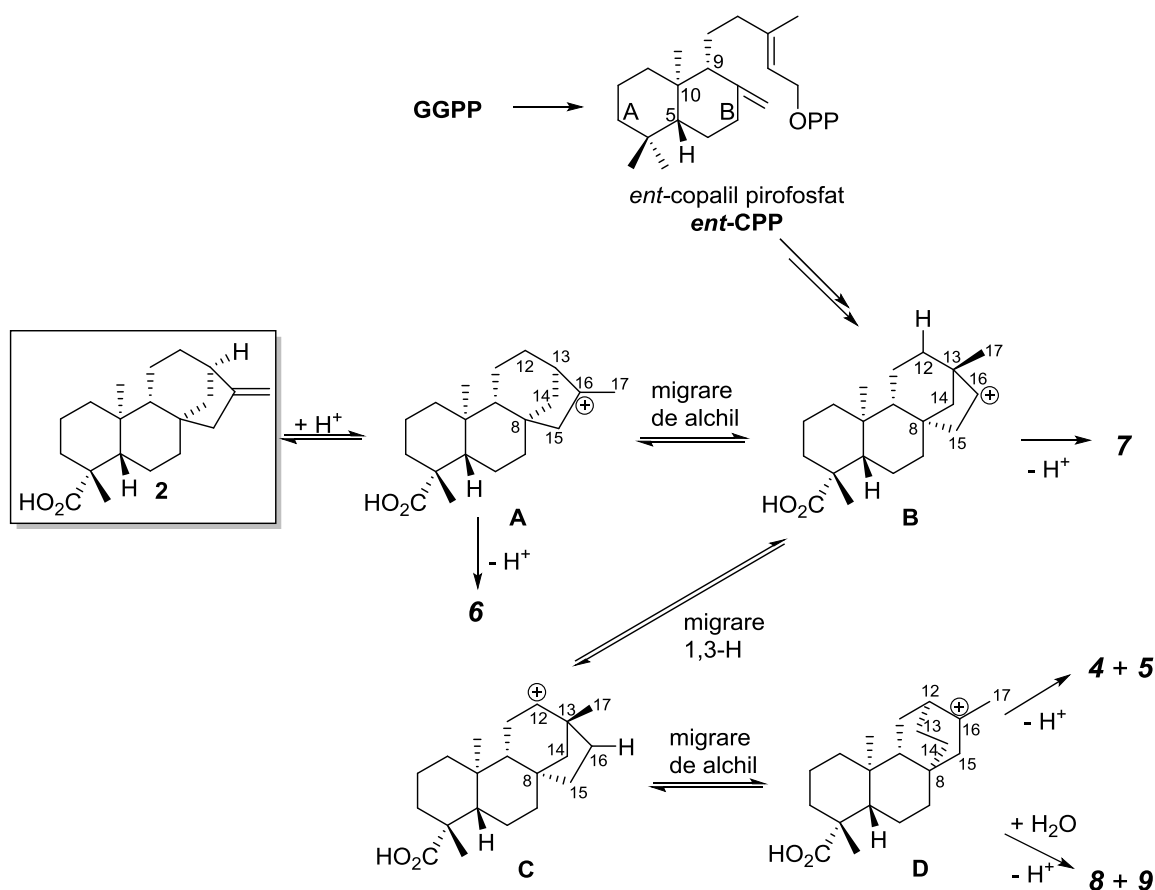


Fig. 3.2. Mecanismul propus al transformării *retro*-biomimetice a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**).

Astfel, izomerizarea superacidă a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**), în comparație cu izomerizarea acidului *ent*-trachiloban-19-oic (**1**), generează o cantitate aproximativ de două ori mai mică de diterpenoide atisanice, randamentul total al compușilor **4**, **5**, **8** și **9** fiind de circa 39%. În schimb, au crescut randamentele derivaților *ent*-kaurenoic **6** (17%) și *ent*-beierenoic **7** (7%).

3.2. Transformări oxidative ale acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic.

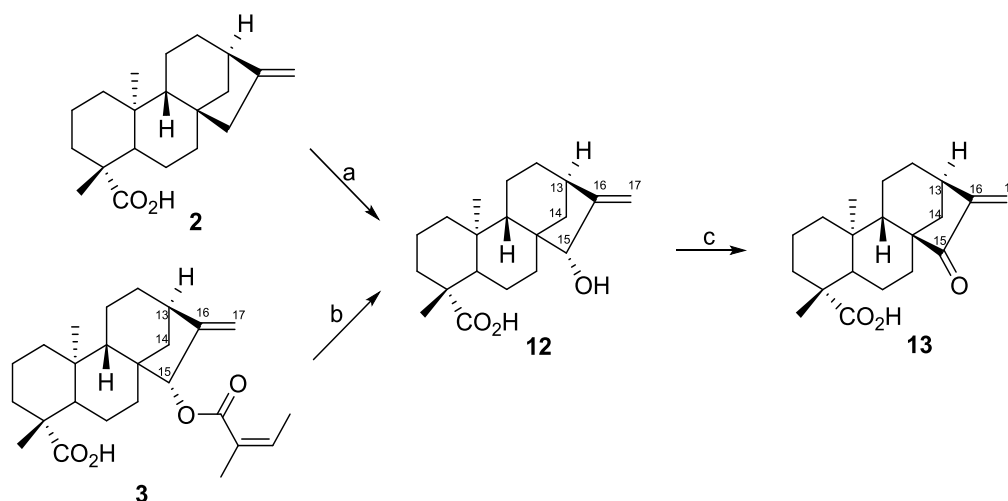
Este cunoscut faptul că, sporirea gradului de funcționalizare al unui compus deseori conduce la apariția sau intensificarea proprietăților biologice ale acestuia. În acest sens, au fost

realizate o serie de transformări oxidative cu implicarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) accesibil, obținându-se o serie de compuși naturali bioactivi, cât și compuși sintetici.

3.2.1. Oxidarea alilică a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic

Pornind de la ideea de mai sus, a fost realizată oxidarea alilică a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) cu dioxid de seleniu în etanol, obținându-se acidul 15 α -hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**12**), compusul natural ce manifestă o gamă largă de proprietăți biologice (Figura 3.3). Paralel, saponificarea esterului angelic **3** cu soluție etanolică de hidroxid de potasiu conduce la formarea aceluiași compus [9].

Având acid grandifloric (**12**) la dispoziție se deschide calea spre sinteza unui derivat *ent*-kaurenic important. Oxidarea hidroxiacidului **12** cu clorocromat de piridiniu (PCC) în diclorometan duce la formarea acidului 15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**13**), cu un randament de 84% (Figura 3.3) [9]. Cetona **13** este un compus natural izolat din mai multe specii de plante și, conform datelor literare, manifestă proprietăți biologice relevante.



Reagenți și condiții: (a) SeO₂, EtOH, Δ , 4 ore, 68%; (b) KOH, EtOH, Δ , 4 ore, 97%; (c) PCC, CH₂Cl₂, 24 ore, 68%.

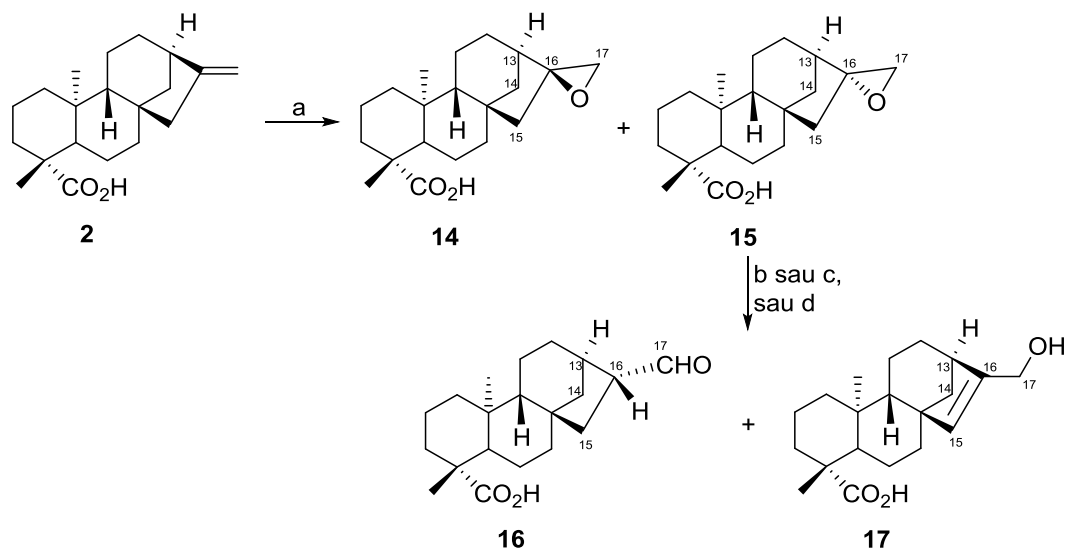
Fig. 3.3. Schema reacției de obținerea a acidului 15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**13**).

Astfel, pornind de la acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) și esterul angelic **3** au fost sintetizați doi compuși naturali biologic activi, funcționalizați în poziția C-15.

3.2.2. Oxidarea treptată a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic

Legătura dublă exociclică în *ent*-kaurani deseori joacă un rol primordial în manifestarea activității lor biologice, dar totodată, aceasta reprezintă un centru reactiv important. O direcție atractivă și promițătoare în funcționalizarea *ent*-kaurenilor este oxidarea legăturii duble. Acidul *meta*-cloroperbenzoic (*m*CPBA) a fost printre primii agenți de oxidare utilizați, acesta fiind antrenat în sinteza derivaților epoxidici ai acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**).

Reacția de epoxidare cu *m*CPBA poate fi efectuată atât pe acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) individual, cât și pe amestecul de acizi izomeri *ent*-trachiloban-19-oic (**1**) și *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**), în al doilea caz reacționând doar acidul **2**. Astfel, la tratarea acidului **2** cu *m*CPBA s-au obținut doi epoxizi izomeri, β -epoxidul **14** (16%) și α -epoxidul majoritar **15** (74%) (Figura 3.4) [10]. Izolarea cromatografică pe coloană cu silicagel a epoxizilor este însoțită de izomerizarea parțială a produșilor cu generarea alchidelor izomere corespunzătoare (~ 5%) [11].



Reagenți și condiții: (a) *m*CPBA, Et₂O, t.c, 2 ore, 91%; (b) HClO₄ (70 %), DMSO, H₂O, 50 °C, 4 ore, 70%; (c) FSO₃H (5 eq.), *i*-PrNO₂, CH₂Cl₂, -60 °C, 15 min, 75%; (d) LiOH (3 eq.), DMSO, 110 - 140 °C, 7 ore, 40%.

Fig. 3.4. Schema reacției de epoxidare a acidului **2** și hidroliza ulterioară a acidului 16 α ,17-epoxi-*ent*-kauran-19-oic (**15**).

Tratarea ulterioară a epoxidului **15** cu acid percloric de 70%, în mediu de sulfoxid de dimetil (DMSO) și apă, a generat deschiderea ciclului epoxidic cu formarea acizilor *ent*-kauran-17-al-19-oic (**16**) și 17-hidroxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**17**) cu un randament total de 70% (Figura 3.4).

Tabelul 3.1. Raportul procentual al compușilor **16** și **17** obținuți prin diferite metode.

N/o	Condiții de reacție	Substrat, %	Alchidă 16 , %	Alcool 17 , %
1.	70% HClO ₄ , DMSO, H ₂ O, 4 - 24 ore	-	26	44
2.	HSO ₃ F, <i>i</i> -Pr NO ₂ , CH ₂ Cl ₂ , -70°C, 15 min.	-	75	2
3.	LiOH, DMSO, H ₂ O, 140°C, 24 ore	15	21	20

O cale alternativă de deschidere a ciclului epoxidic a fost realizată prin tratarea compusului **15** cu un exces de acid fluorosulfonic (5 eq.), la temperatură joasă (-60 °C), obținându-se aldehida **16** cu un randament de 75% și doar urme de alcool **17**. De asemenea, a fost efectuată deschiderea ciclului epoxidic în condiții bazice. Tratarea epoxidului **15** cu LiOH în DMSO, într-un interval de temperaturi de la 80 la 140 °C, a generat produșii **16** și **17** cu randamente modeste, conversia reacției fiind joasă. Rezultatele obținute sunt reflectate în Tabelul 3.1.

Alcoolul **17** reprezintă un compus natural, izolat din mai multe specii de plante, pe când aldehida **16** este un compus sintetic structura căruia a fost demonstrată în baza datelor spectrale. Stereochimia centrului C₁₆ s-a determinat a fi inversă în comparație cu cea a substratului inițial **15**, fenomen care poate fi explicat printr-o posibilă enolizare a intermediarului **Ib** → **Ic** (Figura 3.5).

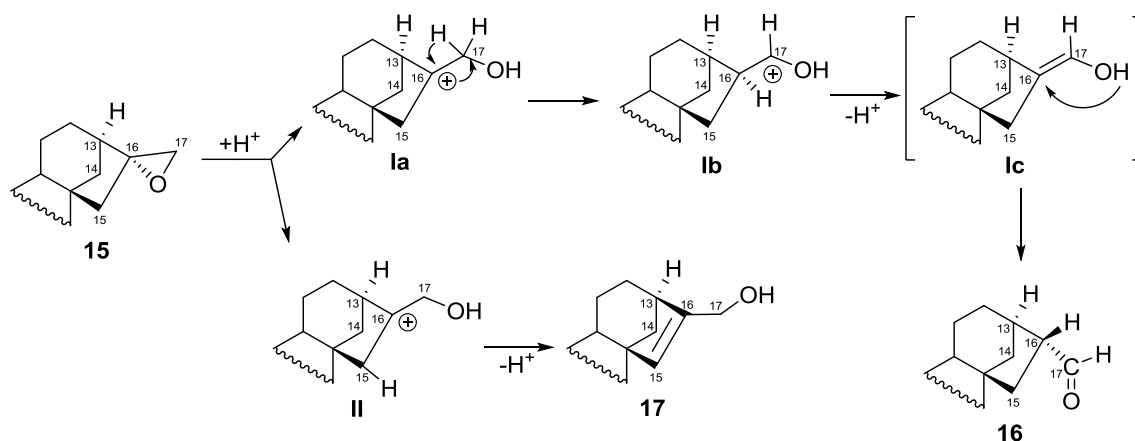


Fig. 3.5. Mecanismul propus al reacției de deschidere a ciclului epoxidic în compusul **15**.

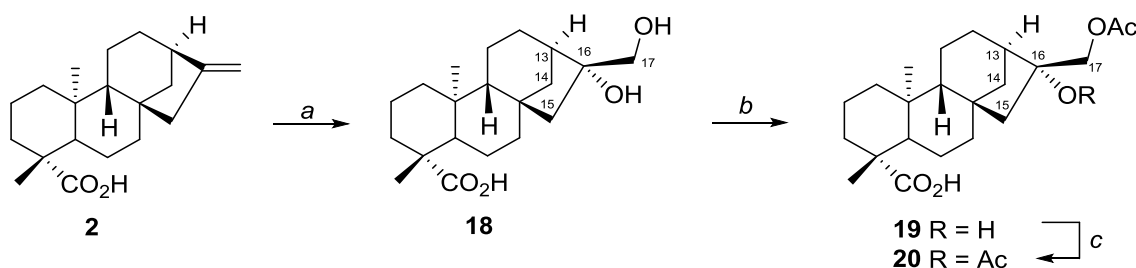
Astfel, pornind de la acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) au fost obținuți o serie de compuși sintetici și naturali. De asemenea, au fost studiate unele posibilități de hidroliză a epoxidului **14**.

3.2.3. Oxidarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic cu tetraoxid de osmiu

O altă direcție atractivă și promițătoare în funcționalizarea *ent*-kaurenilor este oxidarea legăturii duble cu obținerea unor compuși hidroxilați. La oxidarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) cu tetraoxid de osmiu, în prezența cocatalizatorului K₃Fe(CN)₆, s-a obținut acidul 16 α ,17-dihidroxi-*ent*-kauran-19-oic (**18**) cu un randament de 70% (Figura 3.6) [10]. Trebuie de menționat faptul că, acidul 16 α ,17-dihidroxi-*ent*-kauran-19-oic (**18**) reprezintă, conform datelor literare, un compus natural ce manifestă activitate anti-HIV, anti-cancer și anti-Alzheimer.

Următorul pas cuprinde acetilarea acidului **18** în condiții standard (Ac₂O în Py), obținându-se acidul 16 α -hidroxi-17-acetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**19**) (95%). Ulterior monoacetatul **19** a fost supus acetilării în prezența unei cantități catalitice de dimetilaminopiridină (DMAP),

ceea ce a permis obținerea diacetatului corespunzător, acidul 16 α ,17-diacetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**20**) cu un randament de 95% (Figura 3.5). Acetații **19** și **20** reprezintă compuși naturali ce manifestă proprietăți biologice relevante (conform datelor literare).



Reagenți și condiții: (a) OsO₄, K₃Fe(CN)₆, *t*-BuOH, H₂O, t.c, 48 ore, 70%; (b) Ac₂O, Py, t.c, 48 ore, 95%; (c) Ac₂O, Py, DMAP, t.c, 24 ore, 95%.

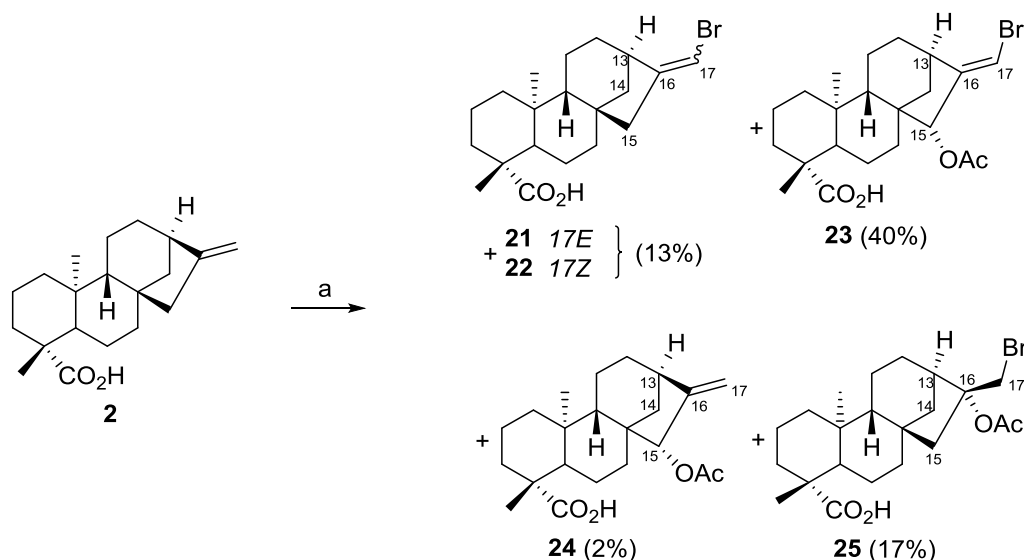
Fig. 3.6. Schema reacției de obținere a acidului 16 α ,17-dihidroxi-*ent*-kauran-19-oic (**18**) și a acetaților **19** și **20**, pornind de la acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**).

Astfel, pornind de la acidul *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) au fost obținuți compușii naturali bioactivi: acidul 16 α ,17-dihidroxi-*ent*-kauran-19-oic (**18**), acidul 16 α -hidroxi-17-acetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**19**) și acidul 16 α ,17-diacetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**20**).

3.3. Funcționalizarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic cu diacetat de iodobenzen – bromură de litiu (PhI(OAc)₂ – LiBr) și/sau periodat de sodiu – bromură de litiu (NaIO₄ – LiBr)

Continuând valorificarea potențialului sintetic al acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) s-a efectuat funcționalizarea acestuia printr-o serie de reacții diastereoselective de dihidroxilare a legăturii duble. În cazul diterpenoidelor, în general, și a kauranilor în particular, prezența mai multor centre reactive în aceeași moleculă, creează dificultăți în parcursul chemo- și regioselectiv al reacțiilor, dar totodată, această particularitate poate genera produși cu totul neașteptați.

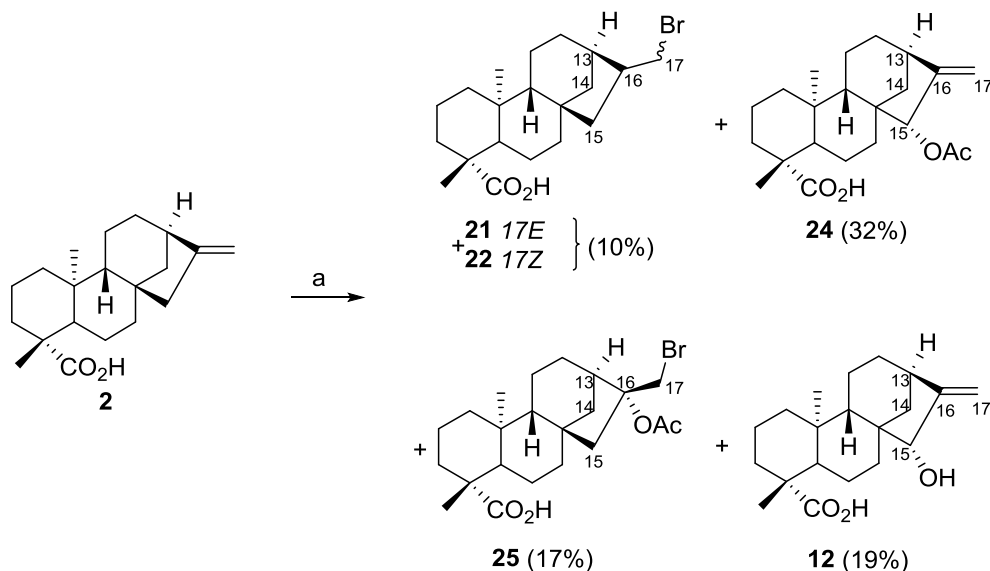
Astfel, la interacțiunea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) cu PhI(OAc)₂, reacția fiind catalizată de LiBr, în mediu de acid acetic glacial, la temperatura de 95 °C, s-au obținut o serie de compuși polifuncționalizați cu totul neașteptați [12]. Produsul de reacție, sub forma unui amestec complex, a fost supus cromatografiei pe coloană cu silicagel și eluarea în gradient cu sistemul eter de petrol/acetat de etil a permis izolarea a cinci compuși: amestecul de bromuri izomere (*E/Z*) **21** și **22** (13%), acidul 17-bromo-15 α -acetoxi-16 Z -*ent*-kaur-16-en-19-oic (**23**; 40%), acidul 15 α -acetoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**24**; 2%) și acidul 17-bromo-16 α -acetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**25**; 17%) dintre care, compușii **21** – **23** și **25** nu au fost raportați anterior (Figura 3.7). Amestecul de bromuri izomere a fost recromatografiat pe coloană cu silicagel, în rezultat, obținându-se acizii individuali 17-bromo-16 Z -*ent*-kaur-16-en-19-oic (**21**) și 17-bromo-16 E -*ent*-kaur-16-en-19-oic (**22**). Randamentul sumar al compușilor constituie 72%.



Reagenți și condiții: (a) $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ (1 eq.), LiBr (20 mol%), AcOH , 95°C , 18 ore.

Fig. 3.7. Schema reacției acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) cu $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$.

Funcționalizarea acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**2**) cu sistemul $\text{NaIO}_4 - \text{LiBr}$, a generat, la fel, cinci compuși: amestecul de bromuri izomere **21** și **22** (10%), acidul 15 α -acetoxi-*ent*-kaur-16-en-19-oic (**24**; 32%), acidul 17-bromo-16 α -acetoxi-*ent*-kauran-19-oic (**25**; 17%) și acidul grandifloric (**12**; 19%) (Figura 3.8) [13]. Structura și stereochemia relativă a compușilor sintetizați au fost determinate în baza datelor spectrale.



Reagenți și condiții: (a) NaIO_4 (30 mol%), LiBr (20 mol%), AcOH , 95°C , 18 ore.

Fig. 3.8. Schema reacție a acidului *ent*-kaur-16-en-19-oic (**4**) cu $\text{NaIO}_4 - \text{LiBr}$.

Datorită gradului înalt de funcționalizare acești derivați *ent*-kauranici reprezintă compuși cu un potențial sporit de activitate biologică, unii fiind incluși în studii curente ce țin de activitatea citotoxică testată pe diferite linii de celule canceroase.

Astfel, interacțiunea acidului *ent-kaur-16-en-19-oic* (**2**) cu sistemele $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$ și $\text{NaIO}_4 - \text{LiBr}$, în mediu de acid acetic a generat o serie de compuși *ent-kauranici* funcționalizați în centrele C-15, C-16 și C-17.

3.4. Transformări sintetice ale acidului *ent-kaur-16-en-19-oic*. Partea experimentală

Subcapitolul dat cuprinde descrierea aparatajului utilizat, tehnicilor de lucru și a procedurilor experimentale. De asemenea, sunt descrise caracteristicile spectrale ale compușilor izolați și sintetizați (^1H , ^{13}C RMN, IR), datele spectrometriei de masă și unele constante fizico-chimice individuale.

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

Prezenta teză de doctorat are în vizor sinteza compușilor naturali biologic activi cu pondere joasă în sursele naturale, cât și obținerea derivaților sintetici noi cu potențial sporit de bioactivitate, în baza diterpenoidelor *ent-trachilobanice* și *ent-kaurenice* accesibile.

Studiul literaturii de specialitate și rezultatele originale obținute în cadrul prezentei lucrări au permis formularea următoarelor concluzii:

1. A fost pentru prima dată propusă o concepție nouă de sinteză a compușilor naturali - metoda *retro*-biomimetică. În baza acestui concept, acizii *ent-trachiloban-19-oic* și *ent-kaur-16-en-19-oic* ușor accesibili din deșeurile de floarea-soarelui au generat diterpenoide *ent-atisanice* și *ent-beieranice* - compuși naturali biologic activi.
2. A fost elaborată și optimizată o metodă eficientă și ecologică de izolare din deșeurile de floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.) a acizilor *ent-trachiloban-19-oic*, *ent-kaur-16-en-19-oic* și *15 α -angeloil-ent-kaur-16-en-19-oic* - diterpenoide naturale bioactive și sintoni convenabili în sinteza altor compuși cu activitate biologică.
3. Au fost efectuate un șir de sinteze a unor diterpenoide bioactive, prin funcționalizarea oxidativă a acidului *ent-kaur-16-en-19-oic* la centrele C₁₅, C₁₆ și C₁₇. În rezultat s-au obținut acizii diterpenici: *15 α -hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oic* și *15-oxo-ent-kaur-16-en-19-oic*, *16 α ,17-dihidroxi-ent-kauran-19-oic*, *16 α -hidroxi-17-acetoxi-ent-kauran-19-oic*, *16 α ,17-diacetoxi-ent-kauran-19-oic* și acidul *17-hidroxi-ent-kaur-15-en-19-oic* - compuși naturali biologic activi.
4. Pentru prima dată a fost demonstrată eficiența sistemului diacetat de iodobenzen - bromură de litiu în funcționalizarea acidului *ent-trachiloban-19-oic*. Această reacție decurge cu regrupare de schelet și a demonstrat o selectivitate înaltă. Compușii noi obținuți reprezintă acizi polifuncționalizați, cu schelete *ent-kauranic* și *ent-atisanic*: acidul majoritar *12 α -hidroxi-16 α -acetoxi-ent-kauran-19-oic* și tribromura minoră, acidul *13 α ,15 α -13,15,17-*

tribromo-ent-atis-16Z-en-19-oic. Diterpenoidele noi sintetizate prezintă interes, atât din punct de vedere structural, cât și în calitate de substanțe cu activitate biologică potențială.

5. A fost elaborată o cale de funcționalizare a acidului *ent-kaur-16-en-19-oic* în prezență de diacetat de iodobenzen/periodat de sodiu și bromură de litiu, în mediu slab acid. În rezultat, s-a obținut o serie de acizi *ent-kauranoici* polifuncționalizați noi, cu conținut de brom: acizii *16Z- și 16E-17-bromo-ent-kaur-16-en-19-oic*, *15 α -acetoxi-16E-17-bromo-ent-kaur-16-en-19-oic*, *16 α -acetoxi-17-bromo-ent-kauran-19-oic*; precum și diterpenoidele *ent-kauranice* naturale cunoscute: acizii *15 α -acetoxi-ent-kaur-16-en-19-oic și 15 α -hidroxi-ent-kaur-16-en-19-oic*.

În baza concluziilor prezentate putem recomanda:

- Metoda elaborată de valorificare a deșeurilor de floarea-soarelui (*Helianthus annuus* L.), prin obținerea compușilor diterpenici valoroși este de perspectivă atât pentru medicină și farmaceutică, cât și în sinteza altor diterpenoide naturale, bioactive și greu accesibile.
- Izomerizarea acizilor *ent-kaur-16-en-19-oic și ent-trachiloban-19-oic și-a demonstrat eficiența în obținerea diterpenoidelor ent-atisanice și se recomandă în perspectiva utilizării amestecului de acizi, astfel excluzând etapa costisitoare de separare a acestora. În același context, metoda de epoxidare se recomandă ca o alternativă în separarea acizilor ent-kaur-16-en-19-oic și ent-trachiloban-19-oic.*
- Compușii naturali și cei sintetici obținuți, cu grad înalt de funcționalizare, se recomandă a fi investigați la activitate biologică.

BIBLIOGRAFIE

1. Morarescu O. Synthetic transformations of *ent-kaurenoic acid*. In: Chem. J. Mold., 2015, 10, p. 9 – 19.
2. Morarescu O. et al. Study on extraction process of sunflower (*Helianthus annuus* L.) dry wastes using different solvents. In: Chem. J. Mold., 2013, 8(2), p. 90 – 93.
3. Chetaru O. et al. Superacidic rearrangement of *ent-kaur-16(17)-en-19-oic* and *ent-trachiloban-19-oic* acids. In: The XXXI-st Romanian Chemistry Conference. Organic Chemistry. Râmnicu Vâlcea, România, 2010, October 6 – 8, p. 8.
4. Chetaru O. et al. Biomimetic synthesis of atisanic diterpenoids from *ent-trachiloban 19-oic acid*. In: Simpozion Național PRIOCHEM - ediția a VII-a. București, România, 2011, 27 – 28 octombrie.
5. Chetaru O. Studiul reacției de izomerizare superacidă a acizilor *ent-kaur-16(17)-en-19-oic și ent-trachiloban-19-oic*. In: International Conference of Young Researchers, VIIIth edition, Chișinău, Moldova, 2010, November 11, p. 72.

6. Ungur N. et al. Synthesis of natural atisane-type diterpenoids by *retro*-biomimetic transformations. In: *Helv. Chim. Acta*, 2013, 96, p. 864 – 871.
7. Morarescu O. et al. IBDA / LiBr - mediated functionalization of *ent*-trachiloban-19-oic acid. In: International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the Academy of Science of Moldova, Chişinău, Moldova, 2014, May 28 – 30, p. 209.
8. Chetragaru O et al. A *retro*-biomimetic one-step synthesis of natural atisanic and beyeranic diterpenoids. In: *Chem. J. Mold.*, 2010, 5, p. 121 – 123.
9. Grinco M. et al. C15 functionalized derivatives of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid: isolation from the sunflower *Helianthus annuus L.* and synthesis. In: *Chem. J. Mold.*, 2010, 5, p. 106 – 108.
10. Grinco M. et al. Synthesis of 16,17-dihydroxy-*ent*-kauran-19-oic acid. In: International Symposium on Advanced Science in Organic Chemistry, Miskhor, Crimea, 2010, June 21 – 25, p. 55 (Russ).
11. Chetragaru O. Obţinerea unor metaboliţi ai acidului *ent*-kaur-16(17)-en-19-oic. In: International Conference of Young Researchers, Chişinău, Moldova, 2012, November 23, p.72.
12. Morarescu O. et al. Obtaining of polyfunctional compounds from the *ent*-kaur-16-en-19-oic acid using the prevost – woodward reaction approach. In: International Conference dedicated to the 55th anniversary from the foundation of the Institute of Chemistry of the ASM, Chişinău, Moldova, 2014, May 28 – 30, p. 210.
13. Morarescu O. et al. NaIO₄/LiBr-supported functionalization of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid. In: XVIII-th International Conference "Physical Methods in Coordination and Supramolecular Chemistry", Chişinău, Moldova, 2015, October 8 – 9, p. 108.

ADNOTARE

Morarescu Olga "Transformări sintetice ale acizilor *ent-kaur-16-en-19-oic* și *ent-trachiloban-19-oic*", teză de doctor în științe chimice, Chișinău, 2019. Teza este constituită din compartimentul introductiv și trei capitole, în care sunt prezentate studiul literaturii de specialitate și contribuțiile proprii, ce constau din rezultatele obținute experimental, concluzii generale și recomandări, bibliografie cu 231 titluri, 100 pagini text de bază, 5 tabele și 72 figuri. Rezultatele obținute sunt publicate în 13 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: diterpenoide, compuși biologic activi, acid *ent-kaur-16-en-19-oic*, acid *ent-trachiloban-19-oic*, izomerizare, *retro*-biomimetic, *ent*-atisani, oxidare.

Domeniul de studiu: 143.04 - Chimie bioorganică, chimia compușilor naturali și fiziologic activi

Scopul tezei constă în izolarea diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice biologic active din deșeurile provenite de la recoltarea florii-soarelui, și utilizarea acestora în calitate de materie primă pentru obținerea altor compuși diterpenici naturali bioactivi și a unor compuși sintetici cu potențial sporit de activitate biologică.

Obiective: identificarea solventului optim pentru extracția diterpenoidelor *ent*-kauranice și *ent*-trachilobanice din deșeurile de floarea-soarelui; studiul reacției de izomerizare superacidă a acizilor *ent-kaur-16-en-19-oic* și *ent-trachiloban-19-oic*; funcționalizare oxidativă a acidului *ent-kaur-16-en-19-oic* în pozițiile C-15, C-16, și C-17; polifuncționalizarea acizilor *ent-kaur-16-en-19-oic* și *ent-trachiloban-19-oic* cu sistemele $\text{Ph}(\text{OAc})_2\text{-LiBr}$ și / sau $\text{NaIO}_4\text{-LiBr}$.

Noutatea și originalitatea științifică, semnificația teoretică. Pentru prima dată a fost propusă o concepție nouă de sinteză *retro*-biomimetică. În baza acestui concept a fost realizată diversificarea structurală a compușilor și a fost demonstrată convergența scheletelor *ent*-trachilobanic și *ent*-kauranic în compuși biogenetic înrudiți. Pentru prima dată a fost realizată izomerizarea acidului *ent-trachiloban-19-oic* în prezența sistemului de $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$, cu obținerea unor derivați noi înalt funcționalizați cu schelete *ent*-kauranic și *ent*-atisanic. De asemenea, a fost efectuată funcționalizarea oxidativă a acidului *ent-kaur-16-en-19-oic* natural în pozițiile C-15, C-16 și C-17, fiind sintetizați o serie de derivați *ent*-kauranoici naturali și compuși sintetici noi.

Problema științifică soluționată constă în identificarea unor căi noi și interesante de sinteză a unor compuși naturali diterpenici biologic activi cu pondere joasă în sursele naturale, cât și obținerea derivaților sintetici noi cu potențial sporit de activitate biologică.

Valoarea aplicativă a lucrării. Un aspect important al lucrării îl constituie folosirea deșeurilor de la procesarea florii-soarelui, în scopul obținerii substanțelor cu valoare practică pentru economia țării. De asemenea, funcționalizarea derivaților *ent*-kaurenoici și *ent*-trachilobanoic izolați din floarea-soarelui prezintă un interes practic deosebit, deoarece ne oferă o cale eficientă de acumulare a compușilor naturali bioactivi, în particular, a compușilor *ent*-atisanici.

Implementarea rezultatelor științifice. Metoda optimizată de extracție a deșeurilor provenite de la prelucrarea florii-soarelui este pe larg utilizat în cadrul laboratorului Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi, Institutul de Chimie. Acizilor diterpenici obținuți prin această metodă servesc ca materie primă în diverse studii de sinteză. De asemenea, materialul prezentat în teza curentă este parte componentă a unui ciclul de prelegeri, treapta de masterat la Facultatea de Chimie și Tehnologie Chimică a Universității de Stat din Moldova.

ANNOTATION

Morarescu Olga "Synthetic transformations of *ent*-kaur-16-en-19-oic and *ent*-trachyloban-19-oic acids" doctoral dissertation in Chemistry, Chişinău 2019. Dissertation consists of an introduction compartment, three chapters containing theoretical concepts and personal contributions including experimental results, general conclusions and recommendations, references with 231 titles, 100 pages of basic text, 5 tables and 72 figures. The obtained results were published in 13 scientific papers.

Keywords: diterpenoids, biologically active compounds, *ent*-kaur-16-en-19-oic acid, *ent*-trachiloban-19-oic acid, isomerization, *retro*-biomimetic, *ent*-atisanes, oxidation.

The field of study: 143.04 - Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active compounds.

Aim of the study. The isolation of biologically active *ent*-kauranic and *ent*-trachylobanic diterpenoids from sunflower waste, and their subsequent utilization as precursors in the production of other natural bioactive diterpenoids and potentially bioactive synthetic compounds.

Objectives of the study: identifying the optimal solvent for the extraction of *ent*-trachylobanic and *ent*-kauranic diterpenoids from sunflower waste; study of the superacid isomerization reaction of *ent*-kaur-16-en-19-oic and *ent*-trachiloban-19-oic acids; oxidative functionalization of *ent*-kaur-16-en-19-oic acid at C-15, C-16, and C-17 positions; polyfunctionalization of *ent*-kaur-16-en-19-oic and *ent*-trachyloban-19-oic acids with $\text{Ph}(\text{OAc})_2\text{-LiBr}$ and / or $\text{NaIO}_4\text{-LiBr}$ systems.

Originality and scientific novelty, theoretical value: For the first time, a new concept of *retro*-biomimetic synthesis was proposed. Based on this concept, the structural diversification of compounds was performed and the convergence of *ent*-trachilobanic and *ent*-kauranic skeletons into biogenetically related compounds was demonstrated. The isomerisation of *ent*-trachyloban-19-oic acid with $\text{Ph}(\text{OAc})_2\text{-LiBr}$ system was achieved as well, and the new highly functionalized *ent*-kaurane and *ent*-atisane derivatives were obtained. The oxidative functionalization of natural *ent*-kaur-16-en-19-oic acid at C-15, C-16 and C-17 positions was performed producing natural and new synthetic *ent*-kauranoic derivatives.

The solved scientific problem consists of the identification of the new interesting synthesis pathways towards some biologically active natural diterpenoid compounds with low content in natural sources, as well as obtaining the new synthetic derivatives with potential biological activity.

Applicative value of the work. Into the spirit of green chemistry, an important aspect of this work is the use of sunflower waste in order to obtain practically useful substances for the economy of country. Also, the functionalization of *ent*-kaurenoic and *ent*-rachilobanoic derivatives isolated from sunflower has a particular practical interest, as it represents an effective way of the accumulation of bioactive natural compounds, in particular, *ent*-antisane derivatives.

Implementation of scientific results. The optimized extraction process of sunflower waste is widely used in the laboratory of Chemistry of Natural and Biological Active Compounds, Institute of Chemistry. The diterpenic acids obtained by this method serve as a raw material in various synthetic routes. Also, the material presented in the current thesis is part of a teaching cycle, the master's degree level at the Faculty of Chemistry and Chemical Technology of Moldova State University.

АННОТАЦИЯ

Морареску Ольга, “Химические превращения *энт*-кауур-16-ен-19-овой и *энт*-трахилобан-19-овой кислот”, диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук, Кишинев, 2019. Диссертация состоит из введения, трех глав, в которых представлены обзор исследований, имеющихся в литературе, и собственный вклад, основывающийся на экспериментально полученных результатах, общих выводов и рекомендаций, библиографии из 231 наименований, 100 страницы основного текста, 5 таблиц и 72 рисунков. Полученные результаты опубликованы в 13 научных работах.

Ключевые слова: дитерпеноиды, биологически активные соединения, *энт*-каууреновая кислота, *энт*-трахилобановая кислота, изомеризация, *ретро*-биомиметически, *энт*-атизаны, окисление.

Область исследования: 143.04 – биоорганическая химия, химия природных и физиологически активных веществ.

Цель работы заключается в выделении биоактивных *энт*-каууреновых и *энт*-трахилобановых дитерпеноидов из отходов подсолнечника, и их использовании в качестве сырья для получения других природных биологически активных дитерпеноидов и ряда синтетических соединений потенциально обладающих биологической активностью.

Задачи: определение лучшего растворителя для экстракции *энт*-трахилобановых и *энт*-каууреновых дитерпеноидов из отходов подсолнечника; исследование реакции суперкислотной изомеризации *энт*-кауур-16-ен-19-овой и *энт*-трахилобан-19-овой кислот; окислительная функционализация *энт*-кауур-16-ен-19-овой кислоты в положениях С-15, С-16 и С-17; полифункционализация *энт*-кауур-16-ен-19-овой и *энт*-трахилобан-19-овой кислот в среде $\text{PhI}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$ и / или $\text{NaIO}_4 - \text{LiBr}$.

Научная новизна и оригинальность, теоретическая значимость. Впервые была предложена новая концепция *ретро*-биомиметического синтеза. На основе этой концепции была проведена структурная диверсификация соединений и продемонстрирована конвергенция *энт*-трахилобановых и *энт*-каурановых скелетов в биогенетически родственных соединениях. А также, впервые проведена изомеризация *энт*-трахилобан-19-ой кислоты в присутствии $\text{Ph}(\text{OAc})_2 - \text{LiBr}$ и были получены новые высокофункционализированные *энт*-каурановые и *энт*-атизановые производные. Кроме того, была реализована окислительная функционализация природной *энт*-кауур-16-ен-19-овой кислоты в положениях С-15, С-16 и С-17, при этом были получены природные *энт*-каурановые производные и новые синтетические соединения.

Решенная научная задача заключается в выявлении новых интересных путей синтеза некоторых природных биологически активных дитерпеновых соединений с низким содержанием в природных источниках, а также получении новых потенциально биологически активных синтетических производных.

Практическая значимость работы. Важным аспектом работы является использование отходов подсолнечника с целью получения практически важных веществ для экономики страны. Кроме того, функционализация *энт*-трахилобановых и *энт*-каууреновых дитерпеноидов выделенных из подсолнечника представляет особый практический интерес, поскольку является эффективным способ накопления биоактивных природных соединений, в частности *энт*-атизановых производных.

Использование результатов исследований. Оптимизированный процесс экстракции отходов подсолнечника широко используется в лаборатории Химии Природных и Биологически Активных Соединений, Институт Химии. Также материал, представленный в данной работе, является частью цикла лекций, уровня магистратуры на Факультете Химии и Химических Технологий Молдавского Государственного Университета.

MORARESCU OLGA

TRANSFORMĂRI SINTETICE ALE ACIZILOR *ENT-KAUR-16-EN-19-OIC* ȘI *ENT-TRACHIOBAN-19-OIC*

143.04 – CHIMIE BIOORGANICĂ, CHIMIA COMPUȘILOR NATURALI ȘI FIZIOLOGIC ACTIVI

Autoreferatul tezei de doctor în științe chimice

Aprobat spre tipar: 27.02.2019

Hârtie ofset

Coli de tipar: 1.7

Formatul hârtiei 60x84 1/16

Tipar ofset. Tiraj: 60 exemplare

Comanda nr. 24/19

Centrul Editorial-Poligrafic al USM

Str. A. Mateevici, 60, Chișinău, MD-2009, Republica Moldova