



Syntheses in the bibyridine series. Study of the interaction with DNA

Bianca Stegarescu-Furdui

► To cite this version:

Bianca Stegarescu-Furdui. Syntheses in the bibyridine series. Study of the interaction with DNA. Other. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Romanian. NNT: . tel-00166634

HAL Id: tel-00166634

<https://theses.hal.science/tel-00166634>

Submitted on 8 Aug 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE JOSEPH FOURIER

Discipline : Chimie Organique

Présentée et soutenue publiquement par

Bianca STEGARESCU-FURDUI

Le 20 Octobre 2006

**SYNTHESES EN SERIE BIPYRIDINE.
ETUDE DE L'INTERACTIONS AVEC L'ADN**

Directeurs de Thèse : **Dr. Martine DEMEUNYNCK** et **Pr. Ioan DRUTA**

Jury

Pr. Gelu BOURCEANU (Université Al. I. Cuza, Iasi)	Examineur
Dr. Rodica-Mihaela DINICA (Université Dunarea de Jos, Galati)	Rapporteur
Dr. Martine DEMEUNYNCK (UMR 5616, LEDSS, Grenoble)	Examineur
Pr. Ioan DRUTA (Université Al. I. Cuza, Iasi)	Examineur
Dr. Muriel JOURDAN (UMR 5616, LEDSS, Grenoble)	Examineur
Pr. Bogdan SIMIONESCU (Institut de chimie Macromoléculaire, Iasi)	Rapporteur

Thèse préparée au Laboratoire d'Etudes Dynamique et Structurale de la Sélectivité

SOMMAIRE

Page.

INTRODUCTION. CONSIDÉRATIONS THÉORÉTIQUES

I. INTRODUCTION.....	8
I.1. Objectifs du travail.....	10
II. CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES.....	13
II.1. Composés de la série 4,4'-bipyridine.....	13
II.1.1. Sels quaternaires dérivés de la 4,4'-bipyridine.....	13
II.1.1.1. Propriétés et applications spécifiques des sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium.....	16
II.1.2. Ylures dérivés de la 4,4'-bipyridine.....	23
II.2 Composés de la série indolizine.....	28
II.2.1. Synthèse des indolizines par cycloaddition intramoléculaire avec anhydride acétique.....	28
II.2.2. Synthèse des indolizines par la réaction Chichibabin et ses variantes.....	29
II.2.3. Synthèse des indolizines par réaction du cycloaddition.....	32
II.2.3.1. Cycloaddition „nonpolaire”.....	32
II.2.3.2. Cycloaddition dipolaire.....	33
II.2.4. Autres méthodes de synthèse des indolizines.....	39
RECHERCHES PERSONNELLES	
III. SYNTHÈSES ORGANIQUES.....	45
III.1. Synthèse et caractérisation des sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium ...	45
III.1.1. Synthèse des réactifs iodés	46
III.1.2. Synthèse des sels diquaternaires symétriques de 4,4'-bipyridinium .	47
III.1.3. Synthèse des sels diquaternaires non symétriques de 4,4'-bipyridinium	
49	
III.2 Synthèse et caractérisation des cycloadduits indoliziniques.....	57
III.2.1. Synthèse des cycloadduits indoliziniques de sels diquaternaires non symétriques de 4,4'-bipyridinium et propiolate d'éthyle.....	60

III.2.2. Synthèse des cycloadduits indoliziniques de sels diquaternaires non symétriques du 4,4'-bipyridinium et propiolate de 4-nitro-phényle...	68
III.2.3. Synthèse des cycloadduits indoliziniques par réactions de cycloaddition en phase solide, sous irradiation avec micro-ondes.....	74
III.2.4. Fonctionnalisation des cycloadduits indoliziniques.....	78
IV. PROPRIÉTÉS ET APPLICATIONS.....	84
IV.1. Comportement acido-basique des sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium	84
IV.2. L'étude de l'effet antibactérien des nouveaux composés dérivés de la 4,4'-bipyridine.....	90
IV.3. L'étude des propriétés électriques et optiques.....	101
IV.4. L'étude des propriétés fluorescentes des cycloadduits indoliziniques ...	115
IV.4.1. L'étude de l'influence des solvants et des modifications structurales sur la fluorescence des cycloadduits pyridinium-indoliziniques....	119
IV.4.2. L'influence de pH sur la fluorescence des cycloadduits indoliziniques..	127
IV.4.3. L'étude de l'interaction des cycloadduits indoliziniques avec l'ADN...	130
IV.5 L'étude des propriétés antioxydantes des cycloadduits indoliziniques ...	139
V. PARTIE EXPÉRIMENTALE.....	145
V.1. Procédé général pour la synthèse des réactifs iodés (2 a-d).....	146
V.2 Procédé général pour la synthèse des sels diquaternaires symétriques de 4,4'-bipyridinium (5, 7)	148
V.3. La synthèse de l'iodure de 1-méthyl-4(4-pyridyl)-pyridinium (8)	149
V.4. Procédé général pour la synthèse des sels diquaternaires non symétriques de 4,4'-bipyridinium (9 a-d).....	150
V.5. Procédé général pour la synthèse des cycloadduits monoindoliziniques (12 a-d) utilisant comme dipolarophile le propiolate d'éthyle.....	153
V.6. La synthèse du propiolate de 4-nitro-phényle (13).....	158
V.7. Procédé général pour la synthèse des cycloadduits monoindoliziniques (15 a-d) utilisant comme dipolarophile le propiolate 4-nitro-phényle...	159
V.8. Procédé général pour la synthèse des iodures de N-méthyl-4[1-(3-diméthylamino-1-propyl)-amido-indolizin-7-yl]-pyridinium	163

V.9. Détermination des indices d'insaturation (I.N.) et peroxyde (I.P.)...	166
--	-----

CONCLUSIONS

VI. CONCLUSIONS. PROPOSITION POUR RECHERCHES SUIVANTES.....	168
--	------------

BIBLIOGRAPHIE.....	176
---------------------------	------------

RESUME DE LA THESE

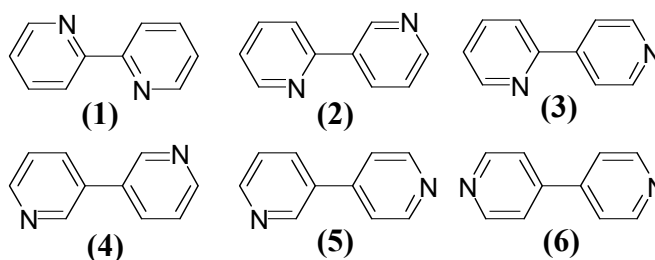
INTRODUCTION. CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES

I. INTRODUCTION

Au cours des années, dans la littérature de spécialité, ont été décrites les méthodes de synthèse et les propriétés d'un grand nombre de composés hétérocycliques aromatiques, avec cycles de grandeur variable et un ou plusieurs hétéroatomes identiques ou différents.

Parmi eux, une place à part est occupée par les composés bipyridines, hétérocycles mono-hétéroatomiques, avec des noyaux de six atomes, ayant comme hétéroatome l'azote. L'intérêt pour ces produits date du début du siècle passé⁽¹⁻⁴⁾, et connaît actuellement un grand développement, à cause de leurs propriétés permettant des nombreuses applications dans divers domaines (chimie, biochimie, pharmacologie)⁽⁵⁻¹⁷⁾.

Sous le nom de bipyridine, dipyridine ou bipyridyl (en conformité avec la nomenclature usuelle du Chemical Abstract) on trouve les six isomères bipyridiniques: 2,2'-bipyridine (1); 2,3'-bipyridine (2); 2,4'-bipyridine (3); 3,3'-bipyridine (4); 3,4'-bipyridine (5); 4,4'-bipyridine (6):



Parmi les composés bipyridiliques, les dérivés avec structure de 4,4'-bipyridine présentent une réelle utilité pratique.

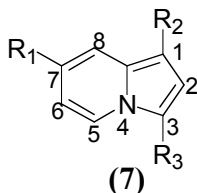
Ainsi, les sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium, nommés au début **viologènes**, à cause des changements de couleur observés dans divers milieux réactionnels, ont attiré l'attention des chercheurs par leurs diverses possibilités d'utilisation⁽¹⁸⁻³²⁾. Les viologènes sont utilisés comme agents de transfert d'électrons mono-électroniques, avec un rôle dans divers systèmes de stockage et de conversion photochimique de l'énergie, comme catalyseurs et indicateurs redox ou cristaux liquides. L'incorporation et le greffage des unités de viologènes dans des structures macromoléculaires a conduit à la formation de polymères possédant des propriétés spéciales utilisées dans l'obtention des matériels sensibles à la lumière et l'électricité. Une autre utilisation très importante des sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium est

liée à leur activité herbicide et bactéricide, le paraquat en étant l'exemple le plus important.

Les sels monoquaternaires de 4,4'-bipyridinium possèdent aussi un intérêt pratique. Des études montrent leur efficacité comme transporteurs d'électrons dans la photochimie des systèmes producteurs d'hydrogène, comme sensibilisateurs pour les émulsions photographiques; cristaux liquides thermotropiques et liotropiques avec des propriétés conductimétriques et électrochromiques, ainsi que comme agents antibactériens⁽³³⁻³⁴⁾.

Les sels quaternaires de 4,4'-bipyridine peuvent aussi servir comme précurseurs dans plusieurs réactions de cycloaddition [3+2]-dipolaire, grâce à leur propriété de former, en milieu basique, des N-ylures avec un caractère de dipôle-1,3 étant des nucléophiles puissants. L'École de Chimie de Iassy, ainsi qu'autres laboratoires internationaux de recherche, ont utilisé ces réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire comme méthode de synthèse pour l'obtention des nouveaux composés hétérocycliques, de la série indolizine⁽³⁵⁻³⁷⁾.

Les composés organiques hétérocycliques, qui contiennent un noyau pyrrole π -excédentaire condensé à un noyau pyridine π -déficientaire, sont connus dans la littérature sous plusieurs noms, mais la dénomination consacrée par Chemical Abstract et qui va être utilisée dans cette thèse c'est celle des indolizines.



L'indolizine a été découverte pour la première fois par Angeli, en 1890. Le système hétérocyclique pyrrolo[1,2-a]pyridinique (7) est isoélectronique avec l'indole, l'indolizine ayant un système de 10 électrons- π délocalisés, qui lui donnent l'aromaticité. L'isomérisie avec l'indole fait que les indolizines représentent une série des composés hétérocycliques structuralement apparentés aux purines, ce que a conduit au développement de la chimie des indolizines en vue de l'obtention de structures biologiquement actives.

La littérature montre que les dérivés indoliziniques occupent une place importante parmi les hétérocycles, à cause de leurs applications dans les domaines de la chimie, la biochimie, la médecine, ou l'industrie photographique etc.⁽³⁸⁻⁴⁸⁾. Tenant compte des propriétés fluorescentes intéressantes des indolizines⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾ et de

l'augmentation de l'importance de la spectroscopie de fluorescence dans le domaine des analyses biologiques et dans celles appliquées à l'environnement, le développement des nouvelles méthodes de synthèse pour ces composés présente un intérêt remarquable.

I.1. OBJECTIFS DU TRAVAIL

Prenant en considération les multiples applications pratiques des composés 4,4'-bipyridiliques, en particulier comme précurseurs des hétérocycles indoliziniques importants dans différents domaines comme la biologie, la médecine, la chimie ou l'environnement, notre attention s'est dirigée vers l'élaboration de nouvelles méthodes de synthèse, de dérivés de la 4,4'-bipyridine (sels quaternaires et 4,4'-bipyridinium-ylures), l'étude du point de vue de leur réactivité comme 1,3-dipôles dans la synthèse de nouvelles indolizines fluorescentes, ainsi que l'étude des applications pratiques possibles des composés bipyridines dans les domaines de la microbiologie ou de la physique.

Nos recherches s'inscrivent dans la tradition de l'École de Chimie de Iassy dans le domaine des cycloiminium-ylures et des réactions de cycloaddition [3+2]-dipolaire, représentant une continuation directe des résultats récents du groupe conduit par le Prof.dr. Ioan Druta dans la synthèse et l'étude des propriétés fluorescentes de certaines mono- et bis-indolizines dérivées de la 4,4'-bipyridine.

Ainsi, la présente thèse propose les objectifs suivants:

- * La synthèse des nouveaux sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium d'intérêt synthétique et biologique.
- * L'obtention en conditions basiques, d'intermédiaires 4,4'-bipyridinium-ylures et la mise en évidence de leur caractère nucléophile ainsi que le comportement du double dipôle par réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire avec différents dipolarophiles acétyléniques.
- * La synthèse des nouveaux composés indoliziniques, en particulier des dérivés avec substituants réactifs comme point de liaison pour une fonctionnalisation ultérieure.
- * La réalisation d'une étude comparative concernant les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire de 4,4'-bipyridinium-ylures, en conditions basiques

(solvant organique, chauffage classique) et en phase solide, sous irradiation avec micro-ondes.

- * L'essai de fonctionnalisation des composés indoliziniques synthétisés, avec des amines, en vue de leur utilisation comme marqueurs fluorescents d'intérêts biologiques.
- * La détermination de la structure des composés obtenus par analyses spectroscopiques et microanalyse.
- * L'étude des propriétés physico-chimiques des sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium synthétisés.
- * Tester l'activité biologique des composés synthétisés.
- * L'étude des propriétés électriques, thermiques et optiques des composés synthétisés.
- * L'étude des propriétés luminescentes des dérivés indoliziniques nouvellement synthétisés et de l'influence des divers facteurs internes (substituants) ou externes (solvants, pH) sur la fluorescence de ces produits.
- * L'étude de l'interaction des produits indoliziniques avec l'ADN du point de vue de la variation de leur fluorescence.
- * L'étude des propriétés antioxydants des cycloadduits indoliziniques sur la peroxydation des lipides *in vitro*.

Le travail "Synthèses en série bipyridine. L'étude de l'interaction avec l'ADN" est structuré en quatre parties principales.

Première partie contient la présentation de la littérature concernant la synthèse et les applications des sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium, des 4,4'-bipyridinium-ylures et des dérivés indoliziniques.

La deuxième partie du travail contient les recherches personnelles de l'auteur dans le domaine de la synthèse organique, étant présentés les résultats obtenus dans la synthèse des nouveaux sels diquaternaires symétriques et non-symétriques de la 4,4'-bipyridine et des quelques séries différemment fonctionnalisées des pyridinium-indolizines.

La troisième partie de la thèse se réfère aux recherches personnelles de l'auteur effectuées pour tester les propriétés physico-chimiques, physiques et biologiques et pour mettre en évidence des éventuelles applications des nouveaux composés synthétisés.

La quatrième et dernière partie du travail représente la partie expérimentale et contient les méthodes de synthèse et la caractérisation des nouveaux composés synthétisés.

A la fin de cette thèse sont présentés les conclusions qui peuvent être tirées après les recherches effectuées dans le domaine des composés hétérocycliques dérivés de la 4,4'-bipyridine ainsi que quelques directions prochaines de recherche.

II. CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES

II.1. COMPOSÉS DE LA SÉRIE 4,4'-BIPYRIDINE

Parmi les six isomères bipyridine, la 4,4'-bipyridine présente les plus intéressantes propriétés chimiques, les réactions de la 4,4'-bipyridine, substituée ou non, conduisant à la synthèse de nouvelles classes des dérivés bipyridiliques avec des applications pratiques nombreuses et importantes.

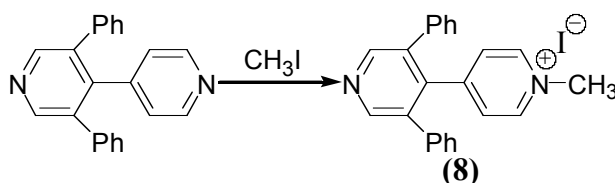
L'analyse de la réactivité chimique de la 4,4'-bipyridine met en évidence le caractère remarquable de ce type des produits, qui fonctionnent comme donneurs d'électrons. Cette réactivité se manifeste par les réactions qui ont lieu sur les noyaux pyridiniques et par les réactions sur l'atome d'azote.

Dans ce chapitre je passe en revue les méthodes de synthèse les plus significatives et récentes et les propriétés des deux classes de dérivés de 4,4'-bipyridine: les sels quaternaires et les ylures.

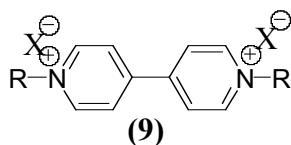
II.1.1. Sels quaternaires dérivés de la 4,4'-bipyridine

Una dintre cele mai interesante proprietăți ale 4,4'-bipiridilului o constituie formarea de săruri mono- și dicuaternare de amoniu, cu diferiți substituenți la atomii de azot, cu importante aplicații practice.

Sărurile monocuaternare de 4,4'-bipiridiniu se obțin prin cuaternizarea mol la mol cu clorură de alchil sau alți agenți de alchilare.⁽⁵²⁾ De exemplu, metilarea 3,5-difenil-4,4'-bipiridilului cu iodură de metil decurge preferențial la atomul de azot 4' rezultând compusul **(8)**.⁽⁵³⁾



Cea mai utilizată metodă de obținere a sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu de tipul **(9)** o constituie tratarea 4,4'-bipiridilului cu exces de clorură de alchil, sulfat de dialchil sau alți agenți de alchilare.^(20, 54-55)

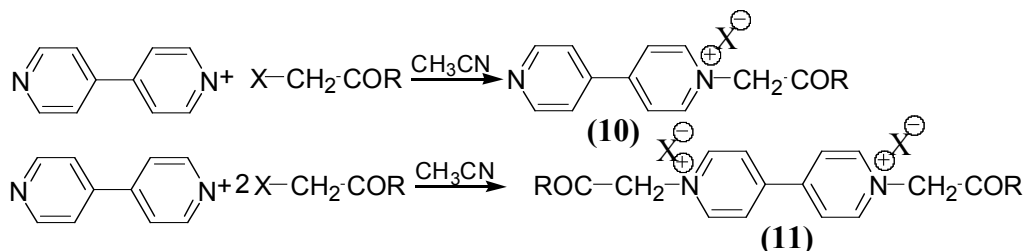


Pe această cale s-a obținut diclorura de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridiliu, denumită uzual Paraquat, PQ (**9**: R=CH₃, X=Cl) cu proprietăți erbicide deosebite,⁽⁵⁶⁾ precum și sărurile erbicide înrudite cu aceasta.

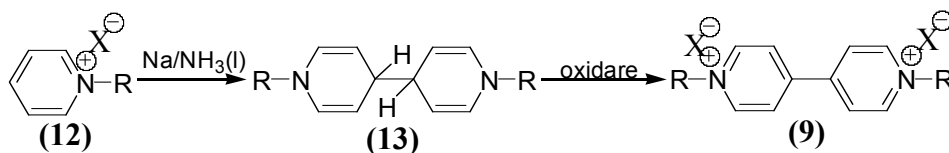
Recent, Douglas și Kilbourn au sintetizat paraquat ¹¹C marcat, cu aplicații ca PET markeri în cercetarea toxicității erbicidelor de acest tip asupra organismelor animale, prin reacția ¹¹C-metil triflatului cu mono-triflatul de 1-metil-4,4'-bipiridiniu. Produsul dorit a fost separat de produsul de plecare prin utilizarea unei microcoloane de rășină schimbătoare de ioni, Chelex 100.⁽¹⁹⁾

Sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu în care grupările cuaternizante R sunt diferite se pot obține prin tratarea sării monocuaternare 1-alchil cu exces de clorură de alchil diferită.^(20, 55, 57)

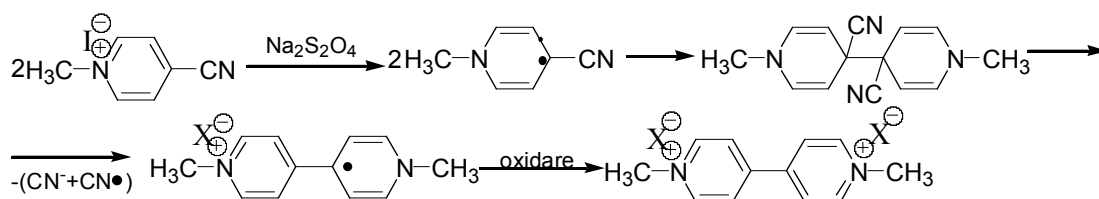
Relativ recent au fost sintetizate sărurile mono- și dicuaternare (**10,11**) prin cuaternizarea 4,4'-bipiridilului cu acrilamidă în mediu acid, sau cu derivați halogenați reactivi (α-halogenoesteri sau α-halogenocetone).^(34, 58-60)



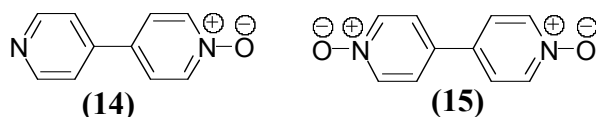
În analogie cu sinteza 4,4'-bipiridilului prin acțiunea sodiului asupra piridinei, urmată de oxidarea intermediarului tetrahidrobipiridilic, s-a studiat o altă metodă de sinteză a sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu, care constă în reacția 1-alchilpiridinelor (**12**) cu amalgam de sodiu sau cu Na/NH_{3(l)}, când se formează 1,1'-dialchil-1,1',4,4'-tetrahidrobipiridilul (**13**), compus care poate fi ușor oxidat la sarea dicuaternară corespunzătoare (**9**).⁽⁶¹⁾



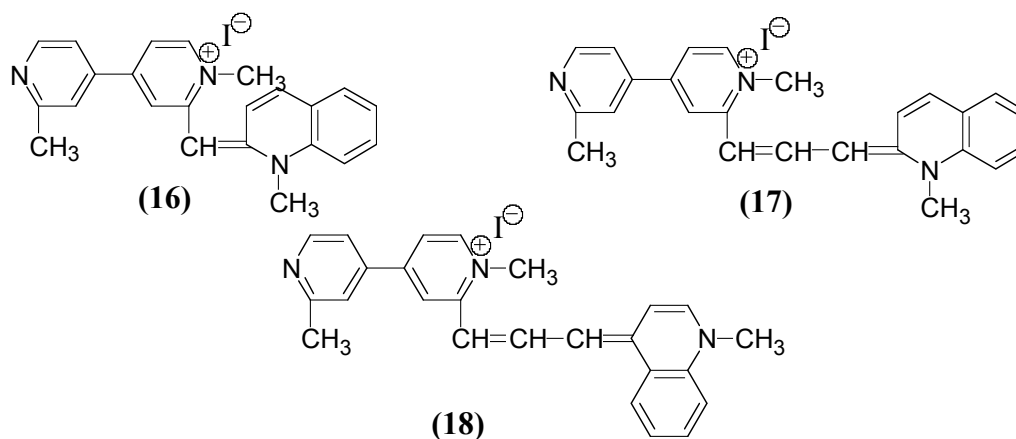
Sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu se pot obține și prin tratarea ciclurilor piridinice substituite cu substituenți atrăgători de electroni, cu reducători (ditiionit de sodiu), rezultând specii radicalice care se stabilizează prin dimerizare.⁽⁶²⁾



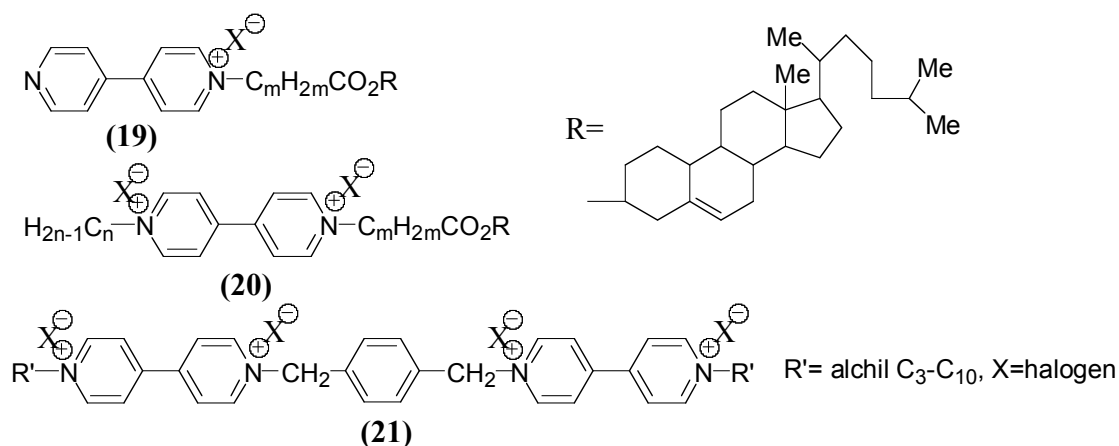
Alte săruri dicuaternare de 4,4'-bipiridiliu au fost sintetizate prin reacția 4,4'-bipiridil-1-oxidului (**14**) sau a 4,4'-bipiridil-1,1'-dioxidului (**15**) cu sulfați de dialkil, când se formează săruri dicuaternare de 1,1'-alcoxi sau 1-alkil-1'-alcoxi.⁽⁶³⁾



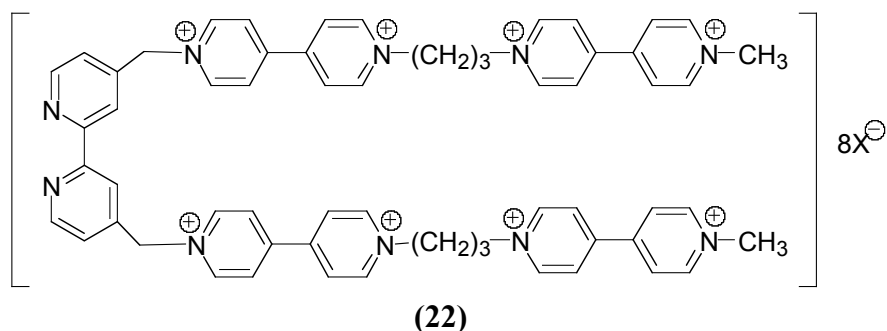
Pornind de la derivații substituiți ai 4,4'-bipiridilului s-au sintetizat o serie de coloranți cianinici (**16-18**), care au proprietatea de a sensibiliza emulsia fotografică clorură-bromură.



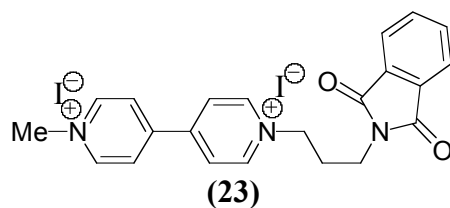
Au fost sintetizate și alte săruri mono- și dicuaternare de 4,4'-bipiridiliu, cu proprietăți de cristale lichide termotropice (**19**, X=halogen) și liotropice (**20**). Proprietățile conductometrice și electrocromice ale compușilor (**19**, **20**) se schimbă cu temperatura, câmpul electromagnetic și presiunea și de aceea acești compuși pot fi utilizați în dispozitivele senzoriale. Aceeași utilizare o au și compușii de tipul (**21**).⁽⁶⁴⁾



Seiler și col. au realizat sinteza unei noi clase de senzori supramoleculari utilizați în domeniul fotosintezei artificiale, ce au la bază săruri dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu de tipul **(22)**.⁽⁶⁵⁾



Prin tratarea iodurii de N-metil-4,4'-bipiridiniu cu N-(3-bromopropil)ftalimidă, în metanol la reflux, s-a sintetizat diiodura de N-metil-N'-(3-ftalimidopropil)-4,4'-bipiridiniu **(23)**, cu aplicații în conceperea sistemelor de fotosinteză artificială.⁽¹⁸⁾

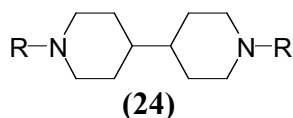


II.1.1.1. Propriétés et applications spécifiques des sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium

Sărurile monocuaternare de 4,4'-bipiridiniu se reduc preferențial la ciclul cuaternizat, în prezența oxidului de platină, rezultând compuși din clasa piperidinelor substituie.⁽⁶⁶⁾ Oxidarea sărurilor monocuaternare de 1-alkil-4,4'-bipiridiniu cu fericianuri alcaline conduce la bipiridin-2-onele corespunzătoare. De asemenea, aceste săruri pot forma complecși cu transfer de sarcină, donori de electroni.

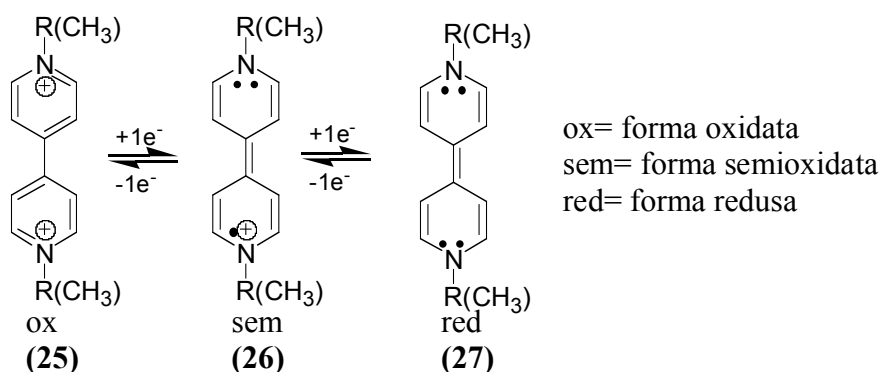
Sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu sunt electroliți puternici și sunt complet dissociate în apă. Structura acestor săruri dicuaternare a fost analizată prin difracția de raze X. S-a constatat că în sarea de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridiniu, dicationul de 4,4'-bipiridiniu este plan, cu cele două grupări metil aproximativ în același plan, în timp ce în iodura de 1,1'-dibenzil-4,4'-bipiridiniu între grupările benzil și dicationul bipiridil există un unghi diedru de 108°. ⁽⁵³⁾

Dintre reacțiile sărurilor dicuaternare de 1,1'-dialchil-4,4'-bipiridiniu putem aminti hidrogenarea care conduce la derivați bipiperidinici complet reduși, de tipul compusului (24). Hidrogenarea controlată are loc cu reducerea unui singur ciclu.



Sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu constituie o clasă specială a sărurilor N-substituite a azotaromateelor, cunoscută sub numele de **viologeni**, datorită proprietății de a-și modifica culoarea în diverse medii de reacție.

Astfel, la tratarea acestora cu o soluție apoasă de KOH se constată, ca și în cazul sărurilor dicuaternare de 2,2'-bipiridiniu, apariția unei colorații albastru-violet, datorită formării radical-cationului de forma (26), printr-un proces de reducere unielectronică. Transferul unielectronic este complet reversibil în aer și se poate realiza cu diverși agenți. Stabilitatea radical-cationului (26) se datorează delocalizării electronului radicalic pe întregul sistem, datorită coplanarității celor două inele piridinice. Radical-cationul (26) poate accepta în continuare un alt electron pentru a forma specia neutră (27), incoloră, care a putut fi izolată și în stare pură.



Reducerea unielectronică a sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu a fost studiată de numeroși cercetători, printre care Weitz și Farington.^(67, 68) Dicationul de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridiniu, numit metil-viologen (MV^{2+}), a fost produs, pentru prima dată, de Michaelis, în 1932 la Institutul Rockefeller⁽⁶⁹⁾.

Reducerea unielectronică se poate realiza și pe alte căi în afară de reducerea chimică. Astfel, radical-cationul (26) se poate obține și prin iradiere cu ajutorul senzorilor sau în matrice de polimer, electrochimic, prin expunere la plasma de radiofrecvență.⁽⁷⁰⁾

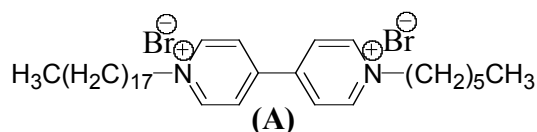
O atenție deosebită s-a acordat și reacției de oxidare a radical-cationului PQ (26) la sarea dicuaternară (25), în prezența oxigenului care este convertit la radicalul anion superoxid $O_2^{\cdot-}$.⁽⁷¹⁾

Viologenii, de tipul metil-viologenului (MV^{2+}), se comportă ca transportori de electroni în sisteme ce servesc ca modele pentru stocarea și conversia fotochimică a energiei solare.^(67, 72) Totodată, metil-viologenul și analogii acestuia sunt importanți indicatori biologici de oxido-reducere.

Reducerea fotosensibilizată a MV^{2+} a fost investigată prin energia de transfer triplet-triplet de la coloranți organici de tipul anionului 9-antracencarboxilat (AC^-) și a coloranților xantینici și acridinici ca fluoresceina, eritrozina, proflavina și acridina, care servesc drept donori de electroni.

Și alți viologenii pot funcționa ca agenți de transfer de electroni, reacțiile realizându-se de obicei de către protonii furnizați de un exces de mediu protic.^(73, 74) Însă, de multe ori pot apare și transferuri de protoni concurente, ca de exemplu în cazul radical-cationului de 1-butil-4,4'-bipiridiniu ($BuPPH^+$) care este eficient atât ca agent de reducere cu electroni cât și ca agent de reducere cu protoni, în mediu protic (CH_2Cl_2 sau DMFA). $BuPPH^+$ poate acționa și ca agent transportor de protoni prin membrane lichide hidrofobe.

Alchilviologenii de tipul (A) au fost utilizați și pentru fabricarea unei fotodiode electrochimice, a cărei eficiență se datorează descompunerii unui strat monomolecular de amestec ce conține un nou compus ternar – format dintr-un acceptor de electroni (A), un sensibilizator (S) și un donator de electroni (D) – și un acid gras⁽⁷⁵⁾.

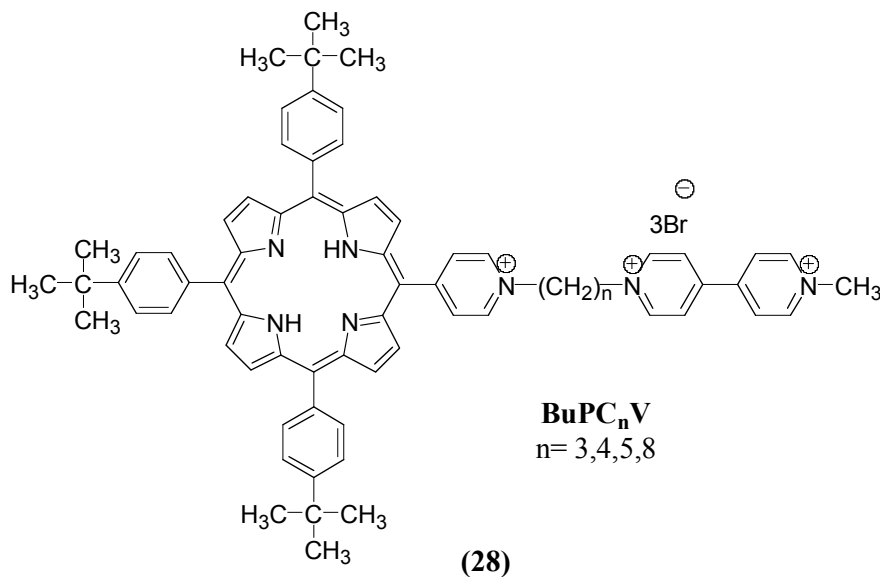


În ultima perioadă, s-au prezentat diverse modele moleculare (donor-fotosensibilizator-acceptor) capabile să mimeze procesele rapide de transfer de electroni ce apar în fotosinteză, cu rezultate în conversia energiei solare în energie electrică. Un astfel de sistem este sistemul **porfirină-viologen**, în care derivații de porfirină, ca de exemplu clorofila, sunt utilizați drept cromofori, iar viologenii, legați printr-un grup spațial de nuclee de porfirină, joacă rol de acceptori de electroni.^(67,76-79)

În acești compuși, transferul intramolecular de electroni fotoindus dintre porfirină și acceptor are loc în starea excitată singlet a restului porfirinic. S-au făcut

studii, prin tehnici de fotoliză rapidă cu laser și prin măsurători directe de fluorescență, asupra influenței orientării reciproce, tipului grupării spațiale, distanței dintre acceptor și donor, influenței solventului asupra vitezei de separare a sarcinilor și recombinației sarcinilor.^(57, 80-83)

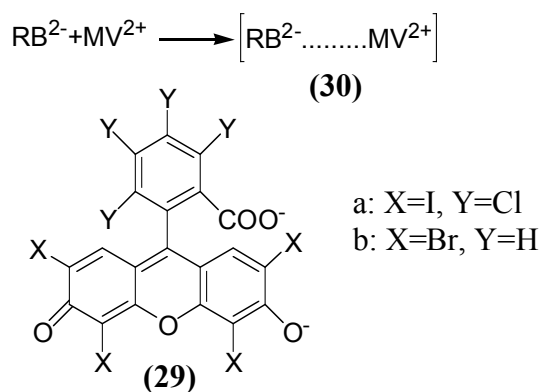
Hosono și colab.⁽⁸³⁾ efectuând studii asupra sistemelor de porfirină-viologen BuPC_nV (**28**) au arătat că viteza transferului de electroni în compușii legați donor-acceptor descrește cu distanța donor-acceptor în starea singlet.



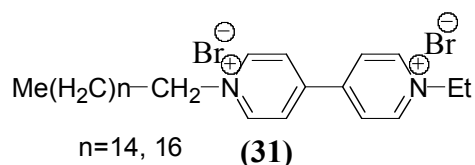
Numeroase lucrări de specialitate au ca subiect studiul combinațiilor complexe formate de viologeni cu diverse clase de compuși.

Astfel, a fost investigată formarea complexelor în stare fundamentală a coloranților de tip xantenic cu viologeni, fiind examinat efectul dioxidului de siliciu coloidal asupra separării acestor complexi.⁽⁸⁴⁻⁸⁵⁾

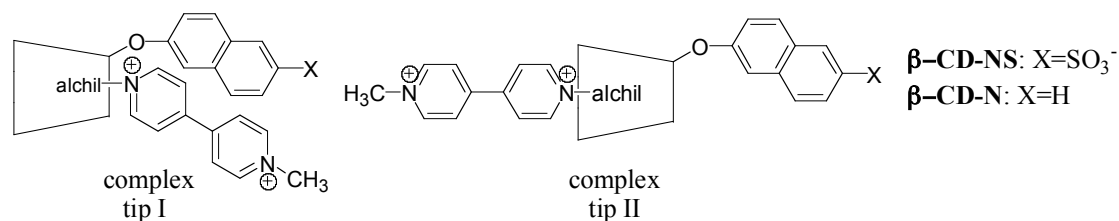
De exemplu, tratarea unei soluții apoase de Roșu Bengal (RB²⁻) (**29a**) cu metil viologen (MV²⁺) conduce la formarea unui complex colorat, în stare fundamentală (**30**), în care separarea sarcinilor este imposibilă datorită retrotransferului de electroni rapid.



Alături de complexii de mai sus, viologenii pot forma complexi de incluziune cu ciclodextrinele (CD), care au rol de gazde^(72, 86). Structura ciclică formează o cavitate hidrofobică capabilă să asocieze substraturi organice. Astfel, sărurile **(31)** pot fi folosite ca probe electroactive pentru interacțiile cu α - și β -ciclodextrinele.

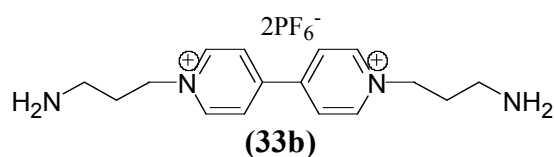
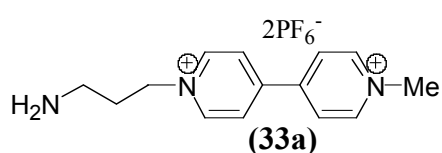
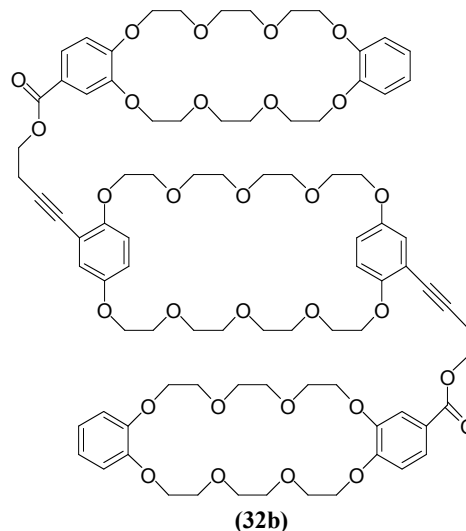
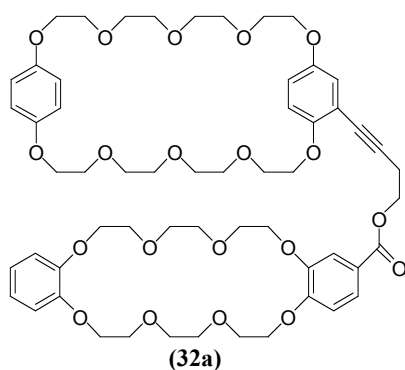


S-a demonstrat că la formarea complexilor de incluziune, capetele hidrofobe ale suprafețelor viologenilor străpung cavitatea ciclodextrinelor. Park și Lee⁽²²⁾ au studiat prin spectroscopie de fluorescență în timp real și prin dicroism circular, modul de orientare al unităților de metilalchilvioleni ($\text{C}_1\text{C}_n\text{V}^{2+}$, $n=7-10, 12$) la formarea complexilor de incluziune cu β -ciclodextrine funcționalizate cu grupări naftil. Astfel, ei au arătat că incluziunea se poate face pe ambele fețe ale cavității (**Schema II.1.1**), în funcție de interacțiile cu transfer de sarcină dintre bipiridiniu și grupările naftil, depinzând în mică măsură de lungimea lanțului alchilic al viologenului.

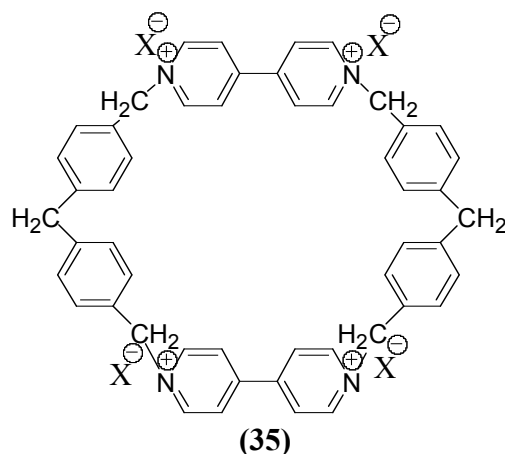
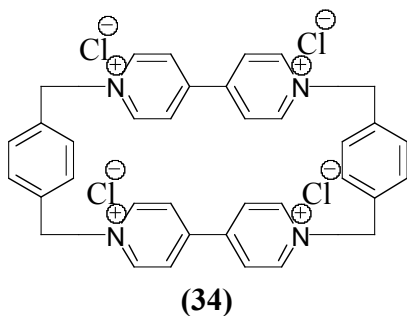


Schema II.1.1 Complexii de incluziune bimodali ai metilalchilviologenilor cu β -CD funcționalizate

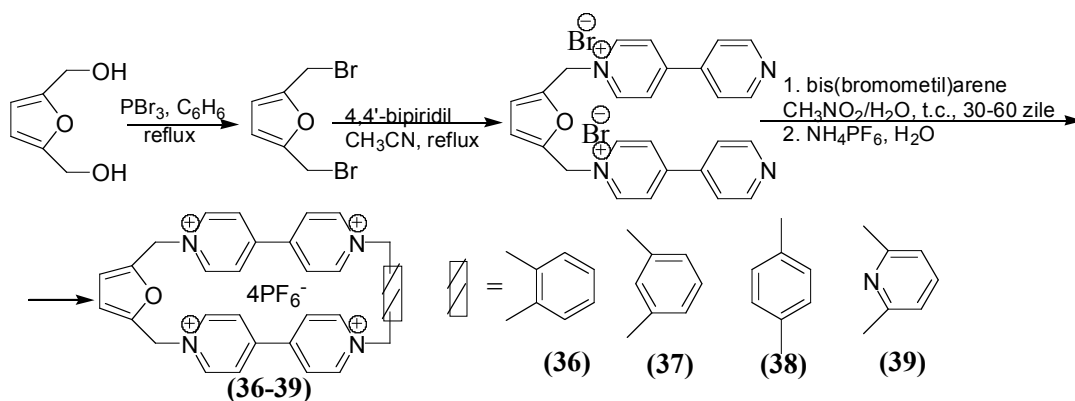
Un alt exemplu de complexi de incluziune, în care viologenul este „oaspete” iar macrociclul „gazda”, îl constituie complexii metilviologenului cu eteri coroană^(87,88), de tipul pseudo[2]rotaxanilor obținuți din derivații bis-p-fenilen-34-coroană-10 purtând una sau două unități dibenzo[24]coroană-8 (**32a-b**) și derivații de 4,4'-bipiridiniu aminați (**33a-b**).⁽²⁰⁾



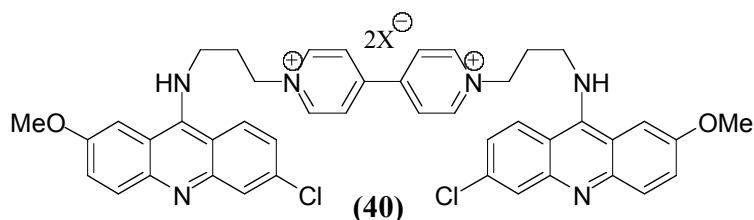
De asemenea, există complecși de incluziune în care rolurile sunt schimbate, sistemele ciclice în care sunt încorporate unități de viologen fiind utilizate drept gazde cationice de molecule^(72, 89). Astfel, compuși macrociclici de tipul (34) sau (35) pot servi drept gazde cationice în unii complecși de incluziune cu arene, calixarene sau derivați ai acestora, pe principiul interacțiunii π donor- π acceptor.



Recent, au fost sintetizați o serie de noi macrocicluri de tip heterofan (36-39), în care 4,4'-bipiridilul este legat de unități aromatice bogate în electroni π , ca furanul, tiofenul și benzo[b]tiofenul, cu posibilă utilizare ca faze staționare în cromatografie.⁽²¹⁾



Takenaka și Takagi au sintetizat un nou intercalant, derivat de bis-9-acridinil- conținând o punte de tip viologen **(40)**, care prezintă o mare afinitate pentru ADN, cu potențiale aplicații ca agent de marcă electrochimică reversibilă pentru ADN.^(90, 91)



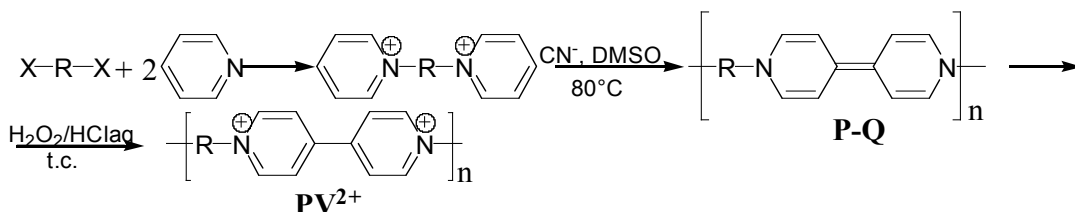
Un mare interes în rândul cercetătorilor prezintă polimerii și copolimerii viologeni derivați de la 4,4'-bipiridil, care sunt materiale cu aplicații deosebite în diverse ramuri ale industriei.

Polimerii viologeni se împart în două mari grupe:

- A) polimeri în care viologenul este încorporat ca membru în lanțul molecular;
- B) polimeri cu viologeni grefați pe lanțul molecular.

Din prima grupă fac parte polimeri cu proprietăți de polielectroliți redox, polimeri cu proprietăți conductive și polimeri redox activi.^(67, 92-96)

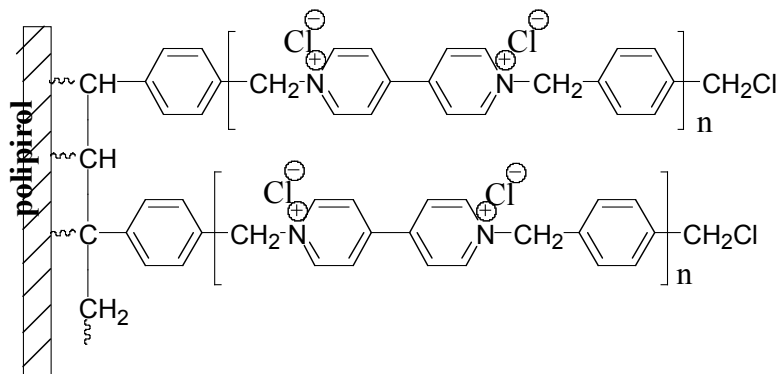
Ageishi și col.⁽⁹⁷⁾ au preparat polimeri cu structură viologenă prin oxidarea polimerilor cu structură chinoidă rezultați din dimerizarea sărurilor de alchilen-4,4'-bipiridiliu, folosind drept catalizator ionul cianură. Polimerii obținuți au proprietăți de electroliți redox, în urma reducerii chimice sau electrochimice schimbându-și intensa culoare bleu.



Polimerii cu unități de viologeni grefate pe lanțul polimeric sunt interesați din perspectiva obținerii de noi materiale fotocromice și electrocromice sau ca viologeni

ce mediază noi fotoreacții în medii aprotice, sau intervin în transferul de electroni trifazic S-S-L.^(34, 67, 98-100)

Cen și colab. au realizat funcționalizarea unei suprafețe de film polipirolic (PPY) (**Schema II.1.2**) cu glucoz-oxidază (GOD) și unități de viologen, în scopul investigării interacțiilor dintre mediatorul redox și enzimă (GOD).⁽²⁴⁾

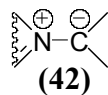


Schema II.1.2. Grefarea unităților de viologen pe film polipirolic

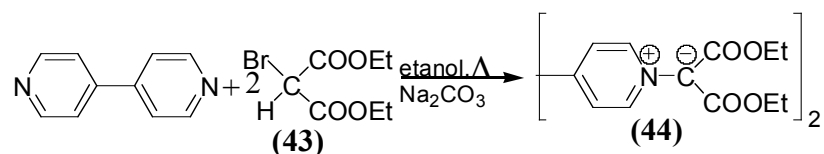
II.1.2. Ylures dérivées de la 4,4'-bipyridine

Sărurile cuaternare ale izomerilor bipyridilici formează, în mediu bazic, bipyridiniu-ilide, combinații organice deosebit de reactive, care pot reacționa cu o gamă variată de substanțe organice.

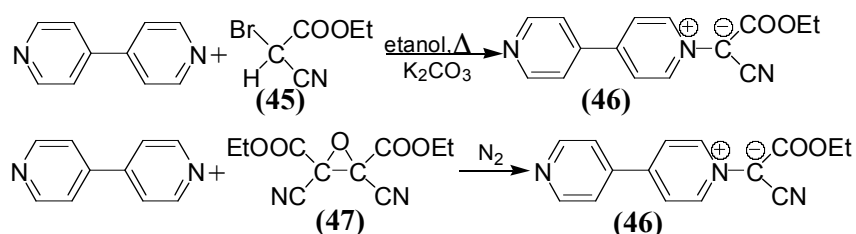
Ilidele sunt combinații bipolare, în care un heteroatom încărcat pozitiv este legat covalent de un anion. În starea fundamentală, acești compuși au o structură „zwitterionică” sau altfel spus mezoionică. Termenul „ylid” a fost introdus pentru prima dată de G. Wittig, în 1944 și provine de la terminația „yl” a radicalilor organici, sugerând prezența unei valențe libere și „yd” precizând caracterul anionic. Bipyridiniu-ilidele aparțin, ca și piridiniu- și benzpiridiniu-ilidele, clasei azometin-ilidelor, respectiv subclasei cicloimoniu-ilidelor, cu structura **(42)**.



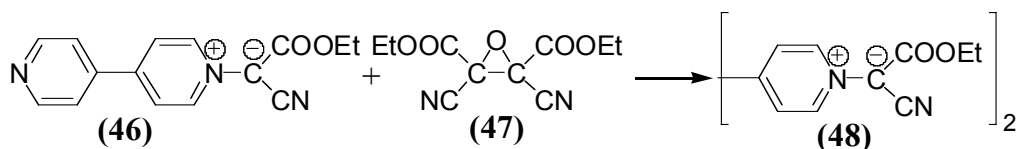
Hunig și col⁽¹⁰¹⁾. au obținut mono- și bis-4,4'-bipyridiliu-ilide prin reacția 4,4'-bipyridilului cu diverși reactanți, în mediu slab bazic. Astfel, din reacția 4,4'-bipyridilului cu dietilesterul acidului brommalonic **(43)** se formează bis-ilida **(44)**, conform reacției:



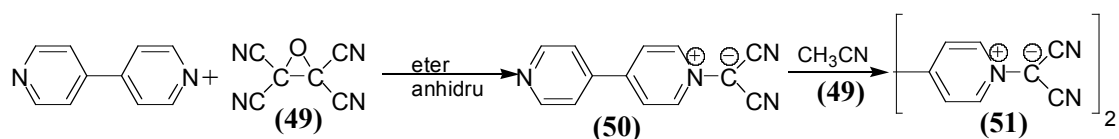
La tratarea 4,4'-bipiridilului cu etilesterul acidului bromcianacetic (**45**) se formează monoilida (**46**) care se poate obține și din reacția 4,4'-bipiridilului cu dietilesterul acidului 2,3-dician-2,3-oxiran-dicarboxilic (**47**).



Prin reacția monoilidei (**46**) cu compusul (**47**) se obține bis-ilida (**48**):

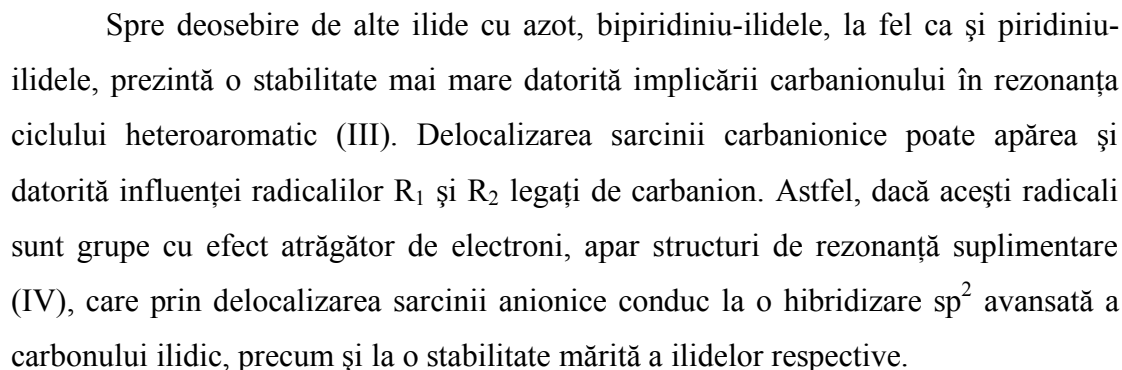
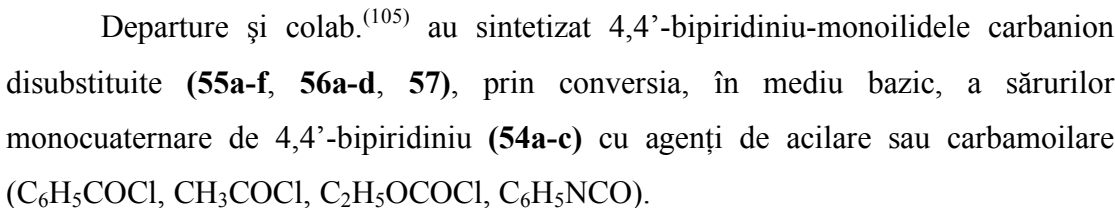


Reacția 4,4'-bipiridilului cu oxirantetracarbonitrilul (**49**) conduce mai întâi la monoilida (**50**) care mai departe reacționează din nou cu (**49**) rezultând bis-ilida (**51**):

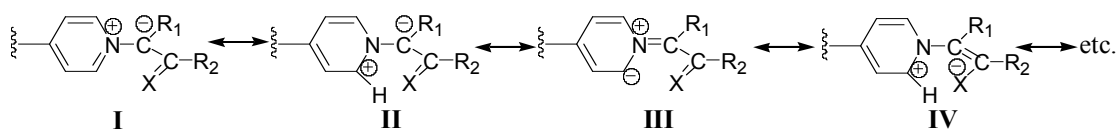


4,4'-Bipiridiniu ilidele se pot obține prin dehidrohalogenare și prin tratarea sărurilor cuaternare de 4,4'-bipiridiliu cu baze slabe de tipul soluției apoase de carbonat de potasiu sau trietilaminei în solvent organic. Metoda folosită pentru prima dată de Kröhnke se numește „metoda sării”⁽¹⁰²⁾.

Prin această metodă pornind de la sărurile monocuaternare (**10a-h**) și respectiv dicuaternare simetrice și nesimetrice de tipul (**11a-s**), preparate din 4,4'-bipiridil și derivați halogenați reactivi (α -halogenocetone și α -halogenoesteri), în prezența trietilaminei, carbonatului de potasiu sau hidroxidului de sodiu, Druță și colab. au obținut ilidele corespunzătoare (**52a-h**; **53a-s**), caracterizate printr-o remarcabilă stabilitate dovedită prin date spectrale.^(36, 103, 104)



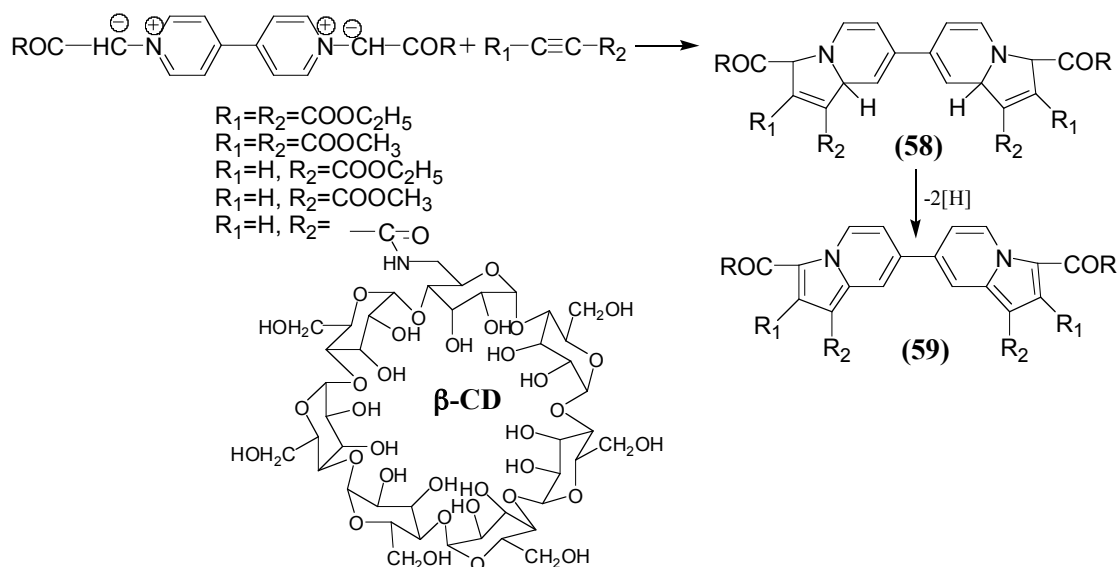
În concluzie, bipiridiniu-ilidele pot adopta mai multe structuri limită dintre care cele mai importante, cu influență asupra reactivității ilidelor, sunt următoarele:



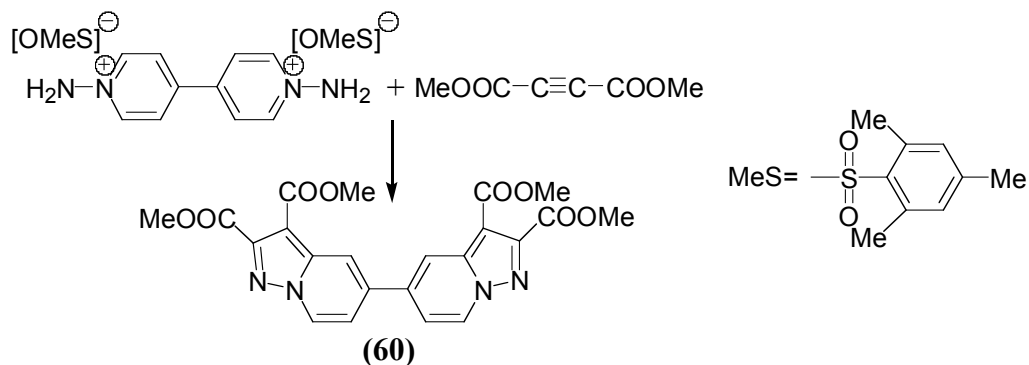
Structura (I) conduce spre reacții chimice mai puțin importante legate direct de legătura ilidică $C^- - N^+$, cum ar fi cele de scindare termică, fotochimică, etc.,^(106, 107) în timp ce, structura (IV), în care ambele sarcini sunt delocalizate, este responsabilă de reacțiile de cicloadiție 5+2 sau 2+2 dipolare (la dubla legătură $C=C$ exociclică).

Forma (II) 1,3-dipolară, în care sarcina pozitivă a atomului de azot este delocalizată la unul din atomii adiacenți din nucleul piridinic, va fi implicată în reacțiile de cicloadiție 3+2 dipolară și 3+3 dipolară cu diverși dipolarofili. Pe această cale se obțin noi structuri heterociclice greu de obținut pe altă cale.

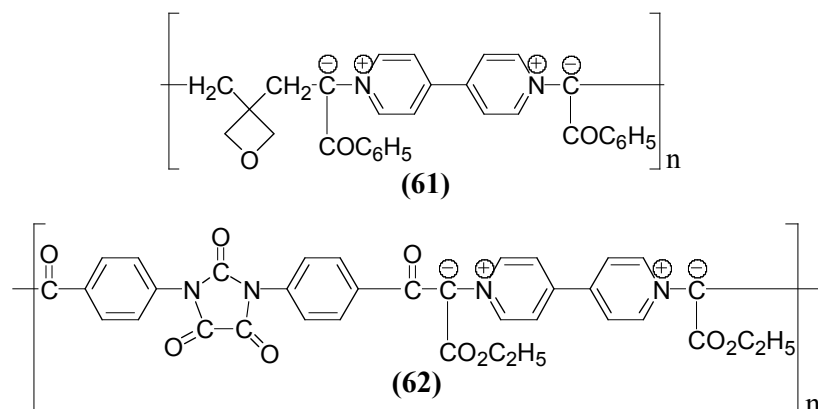
Cercetătorii români și străini au sintetizat noi compuși mono- și bis-indolizinici prin reacții de cicloadiție [3+2] dipolare plecând de la săruri dicuaternare ale 4,4'-bipiridilului și alchine activate simetrice și nesimetrice⁽¹⁰⁸⁻¹¹⁰⁾. Reacțiile de ciclizare au fost realizate atât în condiții clasice (TEA în solvenți anhidri – DMF, C_6H_6 sau N-metilpirolidonă) cât și în fază solidă, prin iradiere cu microunde, în prezență de KF/alumină, ultima metodă dovedindu-se mult mai avantajoasă, din punct de vedere al randamentului, purității produsilor și timpului de reacție. Intermediar se presupune formarea unor compuși de tipul (58) cu o pronunțată tendință de aromatizare, care în urma unui proces de dehidrogenare formează derivații de tip bis-indolizinic (59).



Y. Tamura⁽¹¹¹⁾ și col. au obținut compuși heterociclici bis-pirazolonici prin cicloadiția [3+2] dipolară a sărurilor cuaternare de 4,4'-bipiridiniu cu compuși acetilenici. Pe această cale a fost obținută 2,2'-3,3'-tetrametoxicarbonil-5,5'-bipirazolo[1,5-a]piridina **(60)**.



Surpățeanu și col. au obținut și caracterizat noi polimeri ilidici **(61, 62)**, derivați de la 4,4'-bipiridil, prin policondensarea sărurilor cuaternare ale acestuia cu 3,3-bis(iodometil)oxetan (BIMO)⁽¹¹²⁾ și respectiv cu acidul 1,3-bis(p-clorofornilfenil)-parabanic (BPA)⁽²³⁾.



II.2 COMPOSÉS DE LA SÉRIE INDOLIZINE

Les indolizines sont des systèmes hétérocycliques azotés d'importance fondamentale. Étant des systèmes 10- π électroniques, elles présentent une importance pour l'étude des analogues hétérocycliques des azulènes. Les indolizines et leurs dérivés partiellement hydrogénés constituent la structure de base de nombreux alcaloïdes naturels: (-)-slaframine⁽¹¹³⁾, (-)-dendroprimine⁽¹¹⁴⁾, indalozine 167B⁽¹¹⁵⁾, coniceine⁽¹¹⁶⁾ etc. Les indolizines représentent aussi des intermédiaires-clé pour la synthèse des indolizidines, bis-indolizines, cyclophanes, cyclazines et des autres produits d'importance biologique.

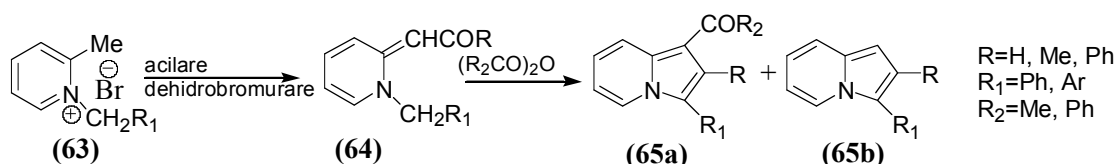
Les méthodes de synthèse de noyau indolizine ont été rassemblées dans quelques revues⁽¹¹⁷⁻¹²¹⁾. Le noyau indolizine a été synthétisé le plus fréquemment par N-quaternisation séquentielle suivie par des réactions de cyclocondensation intramoléculaire, ou par les réactions de cycloaddition des sels de N-acyl/alkyl pyridinium. Une autre voie stéréosélective est à la base de la cyclisation catalysée par le Fer de pyrrolotriènes N-substitués⁽¹²²⁾ ou par la 1,5-cyclisation intramoléculaire de 2-vinyl-pyridinium-ylures en présence du TPCD.

Dans ce chapitre sont présentées les plus importantes méthodes de synthèse du noyau indolizine, en particulier les plus nouvelles et plus significatives pour les recherches effectuées dans le cadre de cette thèse.

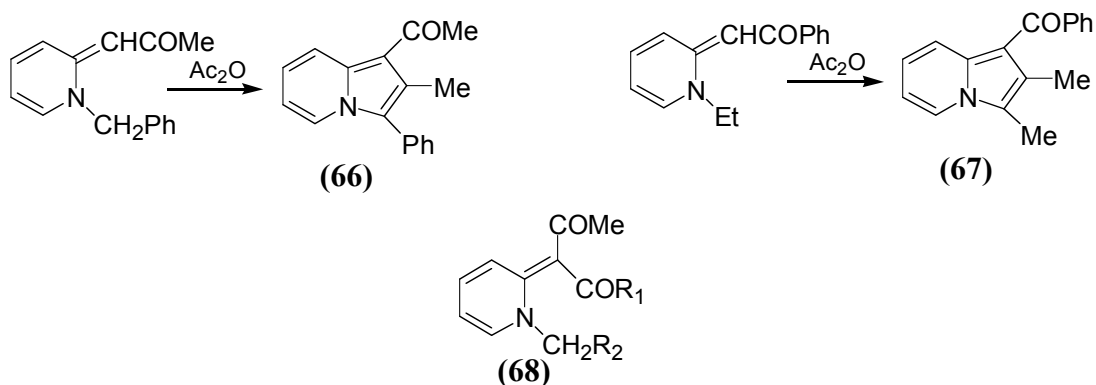
II.2.1 Synthèse des indolizines par cycloaddition intramoléculaire avec L'anhydride acétique

Indolizina a fost preparată pentru prima dată de Scholtz, în 1912, din 2-picolină și anhidridă acetică⁽¹²³⁾. Intermediarul format în această reacție, „picolida”, s-a dovedit a fi 1,3-diacetilindolizina.

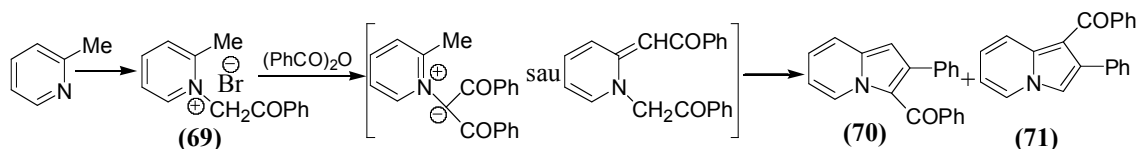
Deși această metodă este rar utilizată datorită randamentului scăzut, anhidrida acetică și alte anhidride sunt considerate promotori ai formării indolizinelor din săruri cuaternare de piridiniu prin reacții de ciclizare în care se formează legătura 2,3-indolizinică.⁽¹²⁴⁻¹²⁵⁾ În prima etapă a reacției are loc acilarea și dehidrobromurarea simultană a unei săruri cuaternare de tipul **(63)**, urmată în a doua etapă de refluxarea cu anhidride a intermediarului **(64)** cu formarea indolizinelor finale **(65a)** sau **(65b)**.



În unele cazuri se obțin randamente bune, la obținerea 1-acil-indolizinei (65a), însă atunci când grupele carbonil sau azometilen ($-\text{N}^+\text{CH}_2-$) nu sunt suficient de activate, se pot forma produși secundari (ex.: (66), (67)). S-a arătat că în aceste cazuri se formează intermediari de tipul (68).⁽¹²⁶⁻¹²⁷⁾



În cazul unei grupări metilen puternic activatoare (ca de exemplu în bromura 1-fenacil-2-picolinei (69)) reacția decurge cu formarea unui amestec de 3-bezoil-2-fenilindolizină (70) și 1-benzoil-2-fenilindolizină (71).



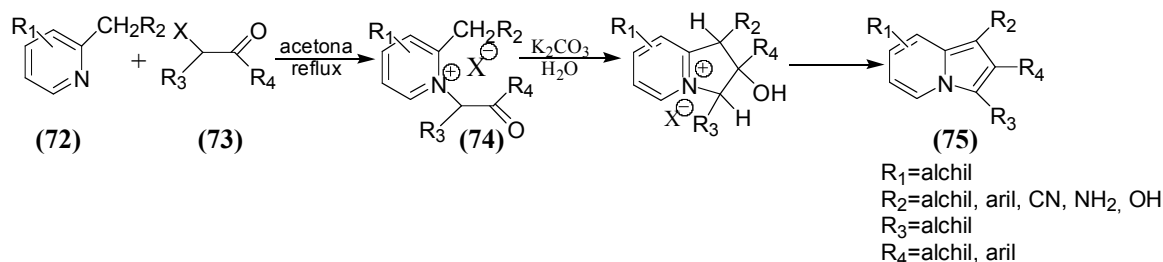
O serie de analogi ai compușilor (70) și (71) au fost preparați prin metode similare din 2,5-dimetil-4-fenil-piridină, folosindu-se pentru ciclizare formamida.

II.2.2. Synthèse des indolizines par la réaction Chichibabin et ses variantes

Dintre metodele disponibile, sinteza Cicibabin a nucleului indolizinic este larg utilizată putându-se obține cu ușurință diferite indolizine substituie. Reacția, o ciclizare mediată de baze a sărurilor de 1-(2-oxoalchil)-2-metilpiridiniu a fost realizată pentru prima dată de Cicibabin, în 1927.⁽¹²⁸⁾

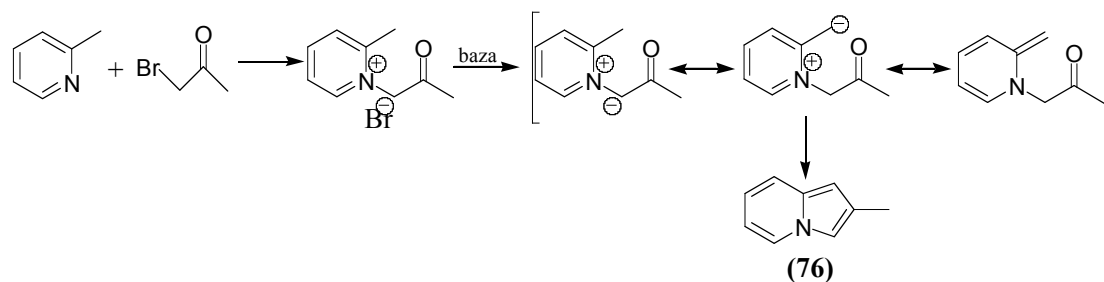
Sinteza se realizează prin cuaternizarea unei piridine 2-substituie, cu derivați α -halogeno carbonilici, urmată de ciclizarea intramoleculară a sărurilor cuaternare (Schema II.2.1). Procesul poate decurge cu sau fără izolarea sării intermediare (74), în absența sau în prezența unei baze slabe (ex.: NaHCO_3 , K_2CO_3 , Et_3N). Reacția se

poate desfăşura într-o gamă largă de solvenți: alcooli, acetonă, acetat de etil, toluen, apă sau poate avea loc chiar  i în lipsa solventului.⁽¹²⁹⁻¹³¹⁾

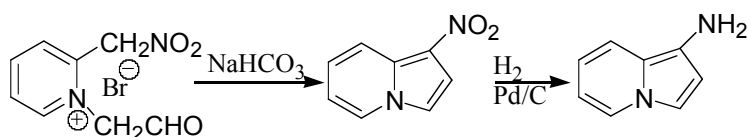


Schema II.2.1. Sinteza Cicibabin a deriva ilor indolizininici

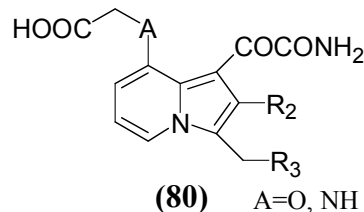
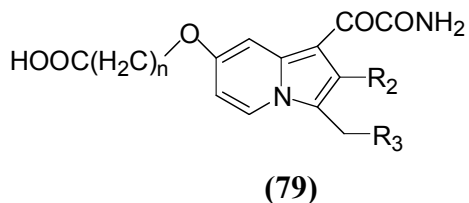
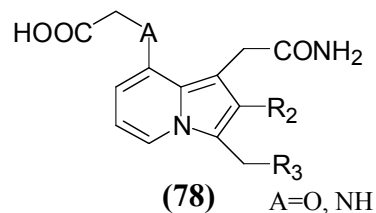
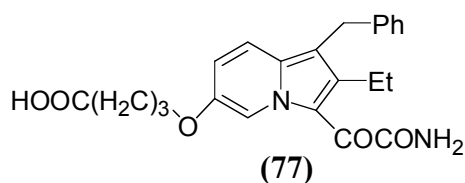
De exemplu, au fost sintetizate indolizine 2-substituie (76) prin reacția unui derivat picolinic cu bromoacetona urmată de tratarea cu o bază. Mecanismul propus pentru această reacție presupune formarea în mediu bazic a ilidei, urmată de atacul nucleofil intramolecular al metilenului activ asupra grupării carbonilice, atac  nso it de eliminarea de apă (sau alcool).⁽¹³²⁾



Prin metoda Cicibabin au fost sintetizate  i 1-amino-, 1-hidroxi-  i 1-nitro-indolizine, cu diverse aplicații practice.⁽¹³³⁻¹³⁵⁾

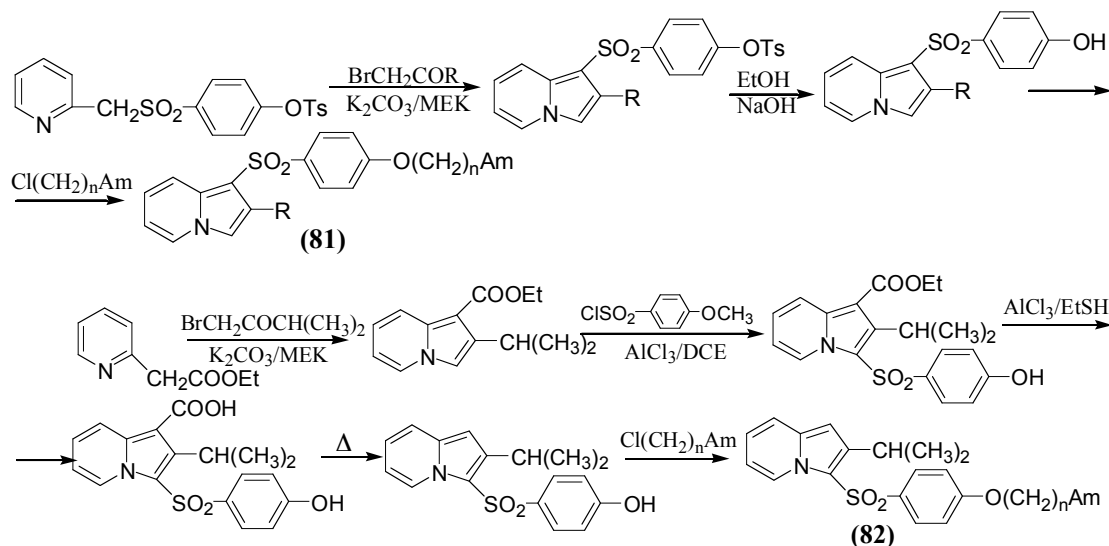


Hagishita  i colab.⁽⁴⁶⁾ au sintetizat patru noi tipuri de derivați 1-(carbamoilmetil)-  i 1-(oxamoil)-indolizininici (77-80) cu o puternică activitate inhibitoare fa a de fosfolipaza A₂ – enzima care hidrolizează poziția sn-2 a anumitor fosfolipide celulare.

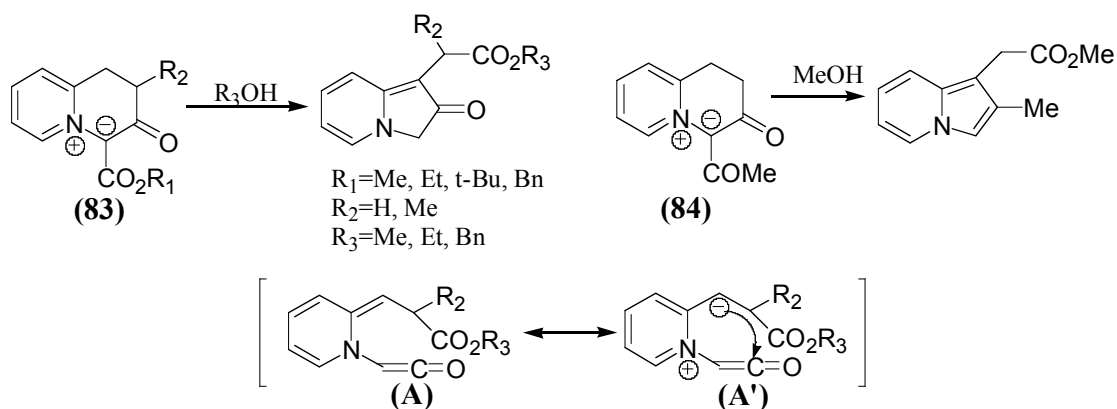


Metoda de sinteză presupune ca etapă principală de obținere a inelului indolizinic, reacția de ciclizare Cicibabin a piridelor substituite cu 1-bromo-2-butanonă, bromometil-ciclopropil-cetonă sau 3-bromo-4-ciclohexil-2-butanonă, în mediu bazic. Acești derivați prezintă de asemenea și o grupare carboxil liberă, capabilă să coordoneze ionii de Ca^{2+} localizați în zona hidrofobă a „site”-ului activ.

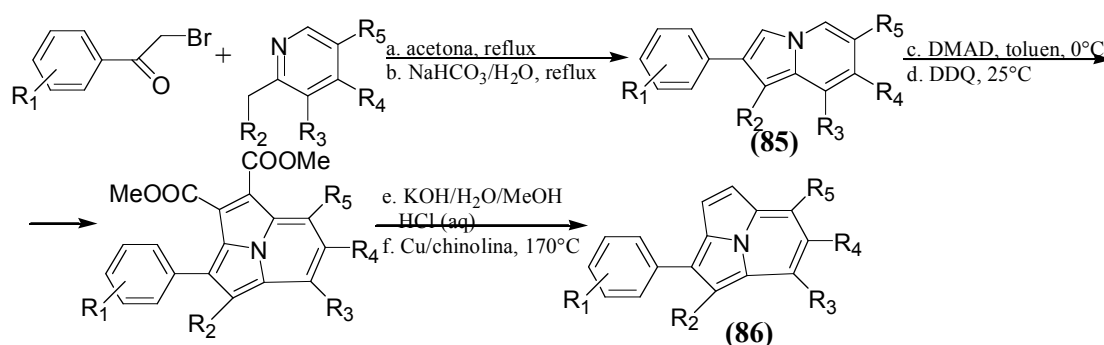
Gubin și colab.^(40, 136) au obținut, pe baza reacției Cicibabin, două noi serii de compuși 1-[(4-aminoalcoxi-fenil)sulfonil]indolizinici **(81)** respectiv 3-[(4-aminoalcoxi-fenil)sulfonil]indolizinici **(82)** cu proprietăți de antagoniști ai calciului în sistemele biologice.



Kostik și colab.⁽¹³⁷⁾ au studiat mecanismul reacției Cicibabin cu ajutorul reacțiilor de solvoliză ale 4-alcoxicarbonil-(sau 4-amil)-3-oxo-1,2,3,4-tetrahydrochinoliziniu ilidelor **(83-84)**, care în solvenți alcoolici (metanol, etanol, alcool benzilic), în absența bazelor conduc prin rearanjări intramoleculare la derivați indolizininici. Studiile efectuate au condus la concluzia că în cursul reacției Cicibabin apare ca intermediar o specie cetenică (**A**).



Recent, Jorgensen și colab.⁽¹³⁸⁾ au sintetizat în condițiile reacției Cicibabin o serie de cicloaducți indoliziniici (85), care prin tratare cu DMAD urmată de oxidare cu 2,3-dicloro-5,6-dicianochinonă (DDQ) conduc la pirolo-[2,1,5-*cd*]-indolizinele (86) cu potențială utilizare ca liganzi ai receptorilor de estrogen.

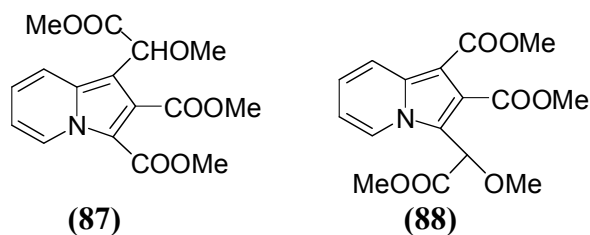


II.2.3. Synthèse des indolizines par réaction du cycloaddition

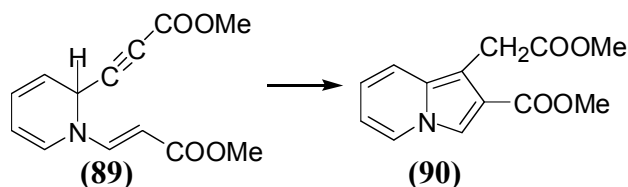
II.2.3.1. Cycloaddition „nonpolaires”

Reacția piridinelor și picolinelor cu derivați acetilenici, conducând la formarea indolizinelor, a fost cercetată pentru prima dată de Diels și colab.⁽¹³⁹⁾ și re-examinată de mai mulți cercetători^(140, 141).

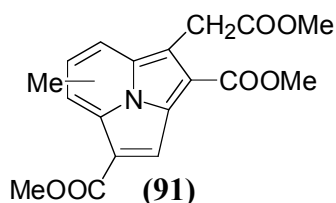
Astfel, Diels și Meyer au arătat că din reacția piridinei cu DMAD, în metanol, la rece, se obțin indolizinele cu structura (87). Ulterior, compusul obținut s-a dovedit a avea structura (88).



Crabtree și colab.⁽¹⁴²⁾ au studiat reacția piridinei cu propiolatul de metil demonstrând că produsul principal al reacției este compusul **(89)**, care prin hidrogenare la presiune redusă și tratare cu piperidină conduce în final la indolizina **(90)**.



Acheson și Robinson⁽¹⁴³⁾ au investigat la rândul lor reacția propiolatului de metil cu piridina și derivații săi 3-, 4- și 3,5-metilați. Ei nu au reușit izolarea compusului **(89)**, dar au izolat compuși de tipul **(90)** și, cu randamente mici, ciclazine cu structura **(91)**.

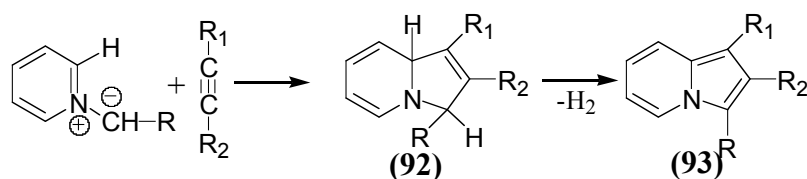


II.2.3.2. Cycloadditions dipolaires

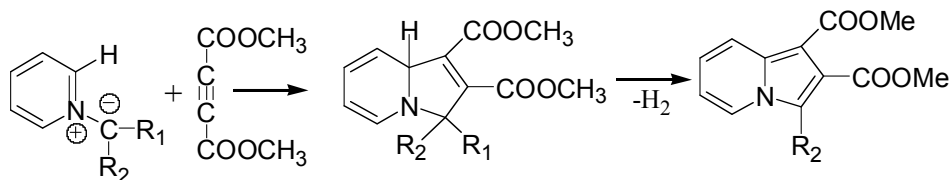
Cicloadiția 1,3-dipolară este una dintre cele mai importante metode de obținere a heterocicliilor de 5 atomi, ele prezentând o mare stereo- și regioselectivitate. În literatura de specialitate există numeroase exemple de cicloadiții intra- și intermoleculare ce implică 1,3-dipoli ca: nitroxizi, nitrilimine, azide, nitrone și azotilide cu diferiți dipolarofili.⁽¹⁴⁴⁾

Datorită particularităților structurale piridiniu-metilidele pot da reacții de cicloadiție [3+2] dipolară cu agenți dienofili, acetilenici sau olefinici activați, conducând la derivați indoliziniici.

Astfel, piridiniu-ilidele carbanion monosubstituite dau cu dipolarofili 1,2-acetilenici activați, cicloaducți cu structură indolizinică. Aductul **(92)** format inițial prezintă o tendință marcantă de aromatizare, trecând în indolizina **(93)** fie prin transfer de hidrogen către excesul de dipolarofil, fie prin disproporționare, în unele cazuri apelându-se și la catalizatori de dehidrogenare ca Pd/C⁽¹⁴⁵⁾.



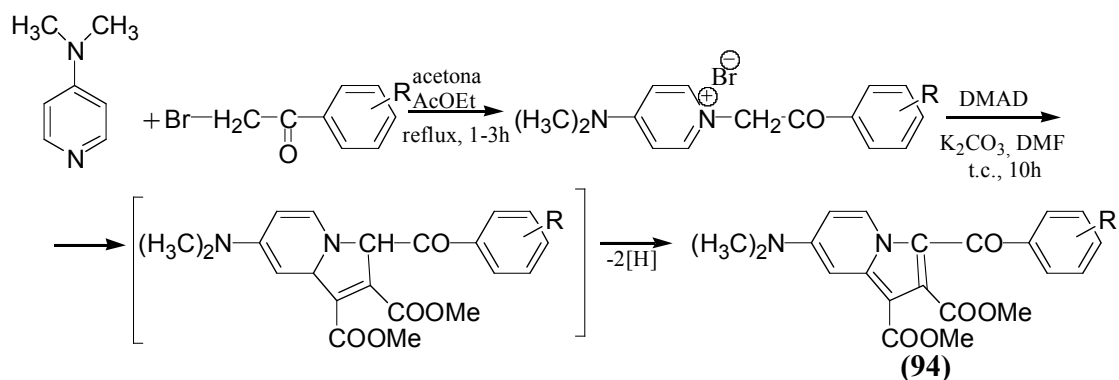
Reacția piridiniu-ilidelor carbanion-disubstituie cu derivați acetilenici, ca de exemplu DMAD, conduce de asemenea la derivați indolizini. În acest caz însă aromatizarea se realizează prin eliminarea uneia din grupările electronice ale carbanionului, cu hidrogenul din α a nucleului piridinic.



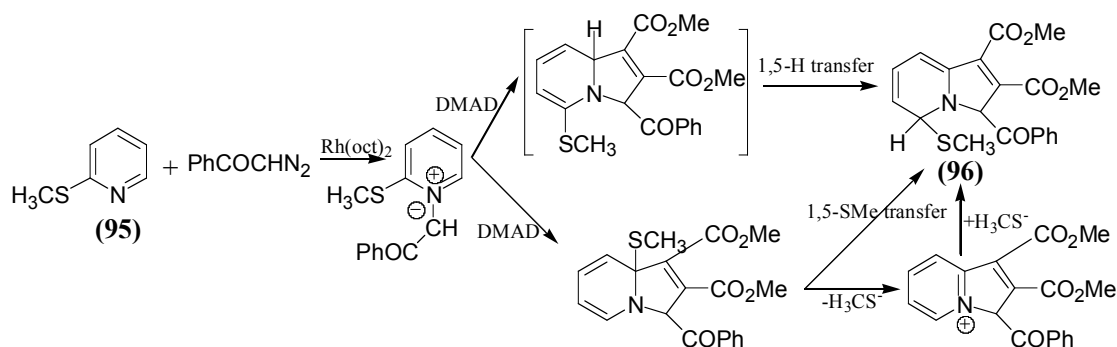
Deși mecanismul cicloadițiilor 1,3-dipolare a fost intens discutat de cercetători, se cunosc puține lucruri despre orientarea reacțiilor de cicloadiție [3+2] ale N-ilidelor substituie în nucleul azaheteroatomic cu diferiți dipolarofili.

Cercetătorii japonezi au studiat procesele de cicloadiție ale unor piridiniu-metilide β -, β,γ - sau γ -substituie cu diferiți dipolarofili cu triplă legătură activată (DMAD, PM), dovedind obținerea în general a unui amestec de indolizine 6- și 8-substituie pentru ilidele β - și β,γ -substituie și respectiv a unei indolizine 7-substituie în cazul existenței unui substituent în poziția γ a piridiniu-ilidei.^(146, 147)

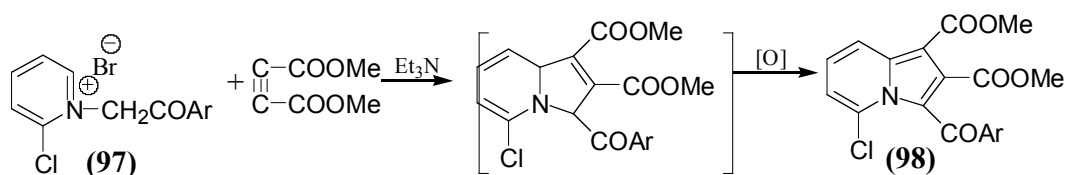
Recent, Sarkunam și Nallu⁽¹⁴⁸⁾ au realizat sinteza unor 7-dimetilamino-indolizine (**94**), plecând de la N,N-dimetilamino-piridină prin cuaternizare cu 2-bromoacetofenone, urmată de cicloadiție 1,3-dipolară cu DMAD în mediu bazic.



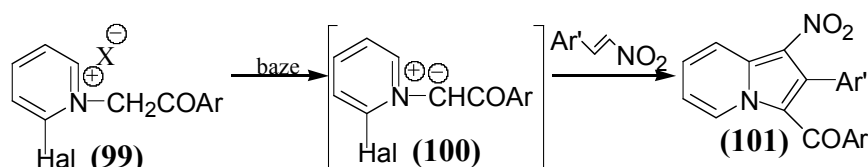
Padwa și colab.⁽¹⁴⁹⁾ au studiat reacțiile de cicloadiție [3+2] dipolare ale alchinelor activate cu piridiniu-metilide-metiltiosubstituie, generate „in situ”, din reacția derivaților piridinici substituiți corespunzători cu α -diazacetofenona, în prezența catalizatorilor complecși de rodiiu. Astfel, la tratarea α -diazacetofenonei cu 2-(metiltio)-piridina (**95**), în prezența unui exces de DMAD, se obține 3-benzoil-1,2-dicarbometoxi-3,5-dihidro-5-(metiltio)-indolizina (**96**), cu un randament de 60%.



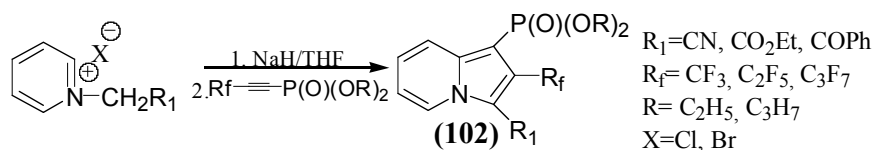
Babaev și al.⁽¹⁵⁰⁾ au realizat recent sinteza derivaților de 5-cloroindolizină (98) prin reacția bromurilor de 2-cloro-1-fenacil-piridiniu (97) cu acetilen-dicarboxilatul de dimetil (DMAD), în prezența trietilamnei.



Intermediar în această reacție se formează 2-cloro-1-fenacil-piridiniu-ilida (100), care apare și în reacția sărurilor de 2-cloro-N-fenacil-piridiniu (99) cu ω -nitrostirenul ce conduce, printr-o reacție de adiție Michael urmată de închiderea intramoleculară a inelului și aromatizare, la 1-nitroindolizinele (101).

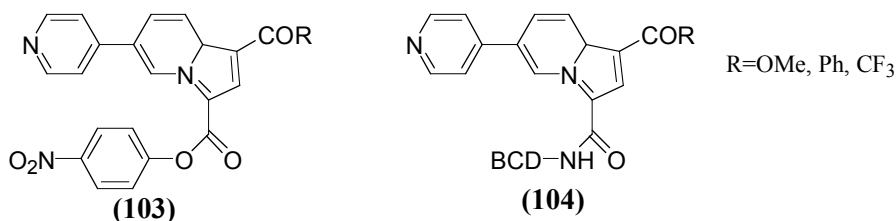


Reacțiile de cicloadiție [3+2] dipolare ale piridiniu-ilidelor cu dipolarofili cu triplă legătură conduc de multe ori la obținerea unor clase de compuși heteociclici cu importanță practică deosebită, greu de sintetizat pe altă cale. Recent un grup de cercetători japonezi⁽⁴⁹⁾ au sintetizat pe această cale noi compuși heterociclici organofosforici, fluorurați, cu un rol important în domeniul chimiei medicinale și agricole. Astfel, prin reacția de cicloadiție 1,3-dipolară dintre piridiniu-ilide și perfluoroalchil-indolizininil-fosfonați s-au sintetizat noi perfluoroalchil-indolizininil-fosfonați (102), cu randamente de 49-77%.

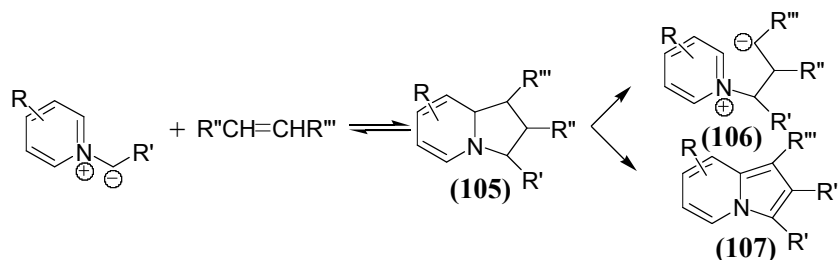


Delattre și colab.^(37, 110, 151) au studiat reacțiile de cicloadiție 1,3-dipolară a 4-piridil-piridiniu-ilidelor cu propiolatul de 4-nitrofenil și respectiv cu propinamido- β -

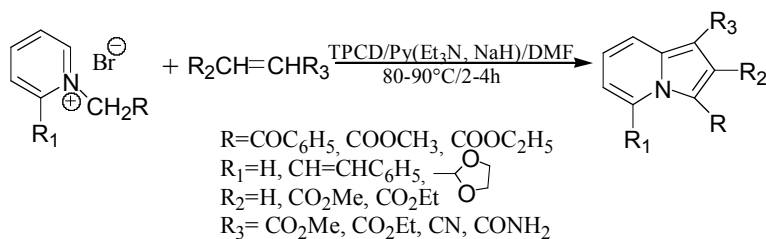
ciclodextrina, obținând noi piridino-indolizine substituie (103) cu aplicații la obținerea de β -ciclodextrine fluorescente (104).



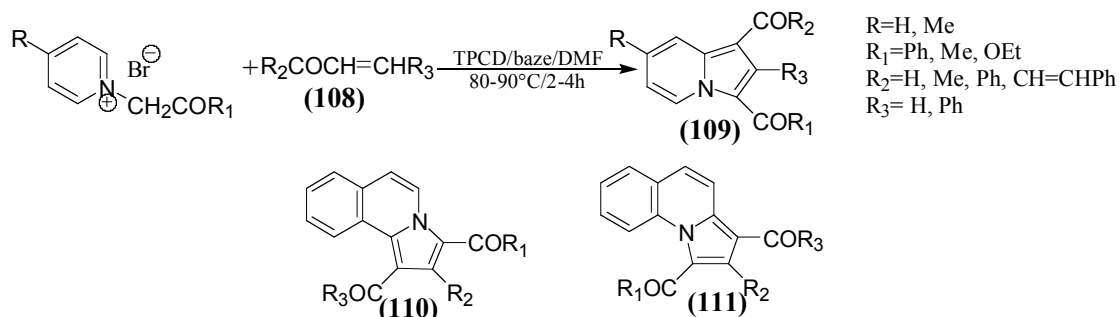
În încercarea de a obține noi derivați indolizinici prin metode mai ieftine și mai accesibile, s-a studiat reacția de cicloadiție [3+2] dipolară a piridiniu-ilidelor cu dipolarofili olefinici activați. Dacă în cazul dipolarofililor cu triplă legătură, intermediarii dihidroindoliznici formați pot suferi un proces de aromatizare „in situ” cu formarea indolizinelor aromatice, în cazul dipolarofililor olefinici reacția de ciclizare conduce la produși tetrahidroindolizinici (105), care se izomerizează sau se descompun cu eliminarea nucleului piridinic, prin „zwitterionul” (106) sau se dehidrogenează la cicloaductul indolizinic final (107), în funcție de natura și poziția substituenților.



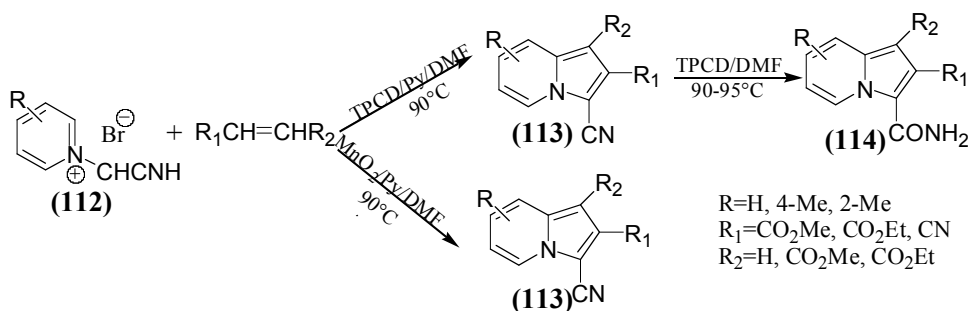
Randamente bune pentru reacțiile de cicloadiție 1,3-dipolară cu olefine activate s-au obținut fie prin utilizarea unor olefine cu structuri complexe ca: maleinimide, fenilsulfinitene, fenil-vinil-sulfoxid, α -cloroacrilonitril sau derivați de metoxi-etenă; fie prin utilizarea ca dipolarofili a alchenelor „normale” (acrilonitril, metil-acrilat, acrilamida, dietil-maleat sau metil-crotonatul), în prezența unor catalizatori de dehidrogenare ca Pd/C, MnO_2 sau tetrakis-piridiniu-cobalt-dicromatul (TPCD) care acționează „in situ” asupra intermediarilor tetrahidroindolizinici instabili^(11, 152-154).



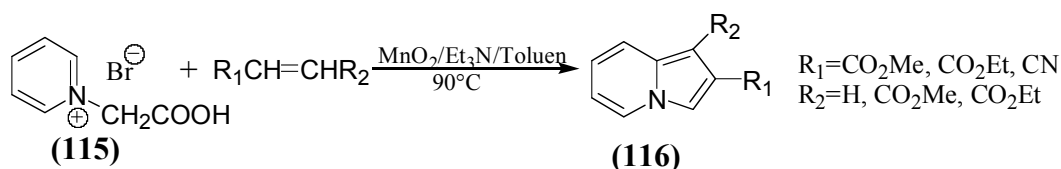
Prin aceeași metodă, în prezența TPCD, din piridiniu-, chinoliniu- sau izochinoliniu-ilide și aldehide sau cetone α,β -nesaturate **(108)** Zhang și al.⁽¹⁵⁵⁾ au sintetizat, cu randamente bune, indolizine-1-acil-substituite **(109-111)**, prin cicloadiție 1,3-dipolară urmată de aromatizare „in situ”.



Același grup de cercetători chinezi, au pus la punct și procedeul de sinteză pentru două clase de agrochimicale importante, indolizin-3-carboxamidele **(113)** și indolizin-3-carbonitrilii **(114)**, prin tratarea bromurilor de N-ciano-metil-piridiniu **(112)** cu dipolarofili olefinici (dimetil-maleat, dietil-maleat, acrilonitril, acrilat de metil).⁽¹⁵⁶⁾

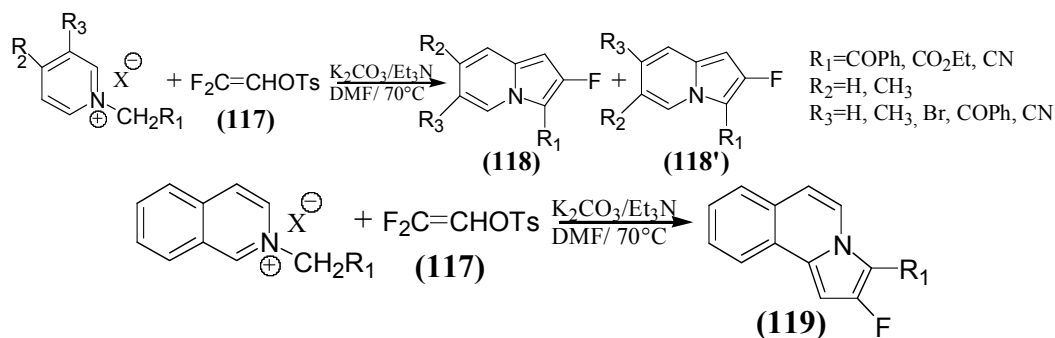


Plecând de la sărurile de N-carboximetil-piridiniu **(115)** la tratare cu olefine activate, în prezență de catalizator MnO_2 , în mediu bazic, s-au putut sintetiza și noi indolizine-3-nesubstituite **(116)**, cu importanță deosebită datorită densității electronice mărite din poziția 3 a nucleului indolizinic, care permite realizarea cu ușurință a substituției electrophile în această poziție, în scopul obținerii a clase de compuși heterociclici cu interesante aplicații.⁽¹⁵⁷⁾

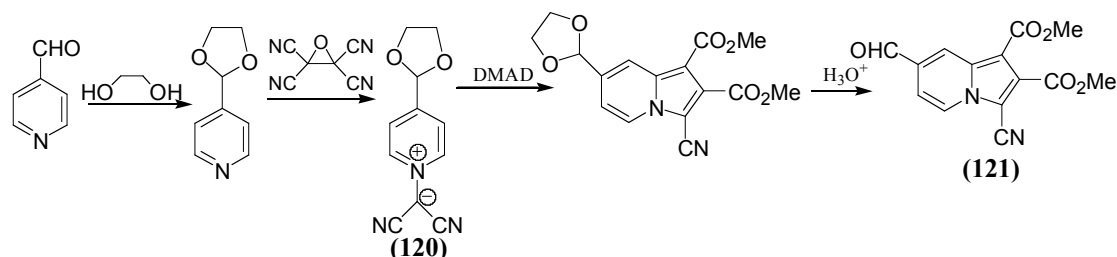


Datorită importanței deosebite pentru biologie, farmacologie și industrie a heterociclicilor cu fluor, cercetările s-au orientat și spre sinteza de noi derivați fluorurați ai indolizinelor. Astfel, Zhu⁽¹⁵⁸⁻¹⁵⁹⁾ prezintă reacția 4-etoxi-1,1,1-trifluorobut-3-en-2-

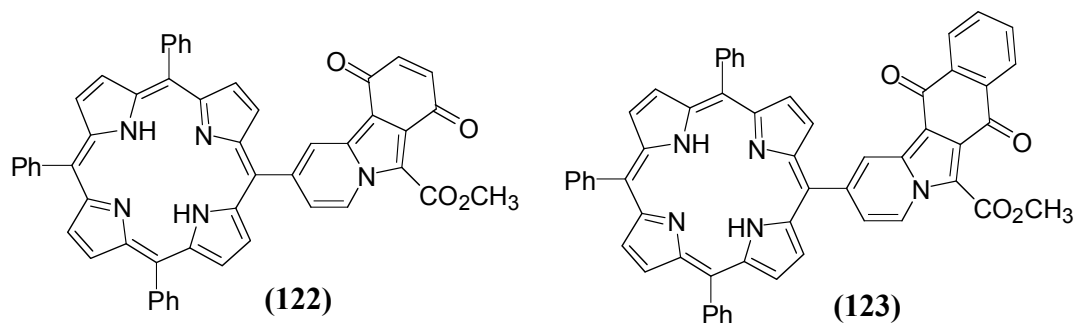
onei cu N-ilide, ce conduce la obținerea de heterocicli trifluorosubstituiți. Huang⁽¹⁶⁰⁾ prezintă reacțiile diferitor N-ilide heterociclice cu 2,2-dihidroperfluoralchenoați, ce conduc la heterocicli perfluoroalchilați. Recent, Wu și Wang⁽¹⁶¹⁾ au sintetizat cu randamente bune, indolizine și benzo[d]indolizine monofluorurate (**118**, **119**), prin reacția de cicloadiție 1,3-dipolară a vinil-tosilatului fluorurat (**117**) cu piridiniu- și izochinoliniu-N-ilidele generate *in situ* din sărurile corespunzătoare, în mediu bazic.



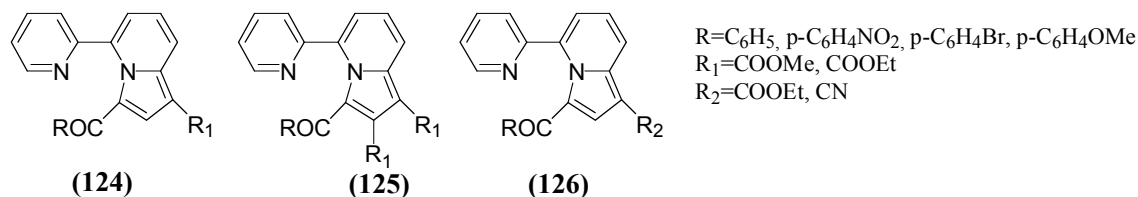
Prin cicloadiția 1,3-dipolară a 4-(1,3-dioxolan-2-il)-piridiniu-dicianometilidei (**120**) cu DMAD, Matsumoto și colab⁽¹⁶²⁾ au realizat sinteza unei 1-ciano-5-formil-indolizine (**121**), utilizată ca precursor în sinteza unui nou sistem porfirino-indolizinic.



Zhao și colab.⁽¹⁶³⁾ au realizat sinteza unor noi sisteme indolizin-porfirine, cu aplicații în studiul mecanismelor de fotosinteză cu transfer de electroni. Astfel, prin cicloadiții 1,3-dipolare ale sărurilor de porfirin-piridiniu cu 1,4-benzochinonă sau naftochinonă în exces, în mediu bazic, se obțin indolizin-porfirine *mezo* substituie (**122**, **123**).



Druță și colab.⁽¹⁶⁴⁻¹⁶⁵⁾ au prezentat reacția 2-(2'-piridil)-piridiniu-ilidelor cu alchine și alchene activate, simetrice și nesimetrice, ce conduce la obținerea cicloaducțiilor monoindolizininice corespunzătoare (**124-126**).

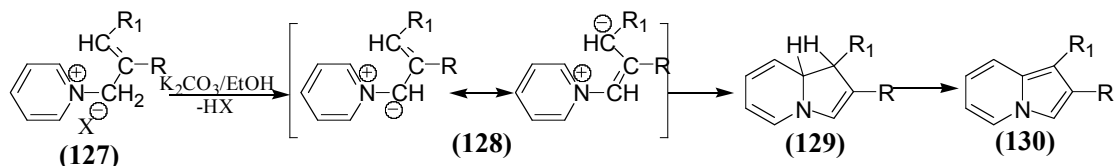


Cu rezultate bune s-a realizat și reacția 4,4'-bipiridiniu-ilidelor simetrice și nesimetrice cu alchine activate, simetrice sau nesimetrice, în mediu bazic, cu obținerea derivaților bis-indolizininici.^(36, 103, 166)

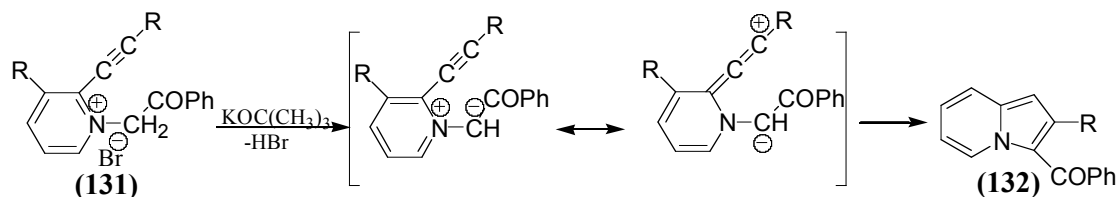
II.2.4. Autres méthodes de synthèse des indolizines

Electrociclizarea-1,5 a N-ilidelor a fost aplicată pentru sinteza mai multor sisteme heterociclice cu N, inclusiv a indolizinelor. Pe această cale s-au sintetizat diferite tipuri de indolizine de către mai multe grupuri de cercetători⁽¹⁶⁷⁻¹⁶⁸⁾.

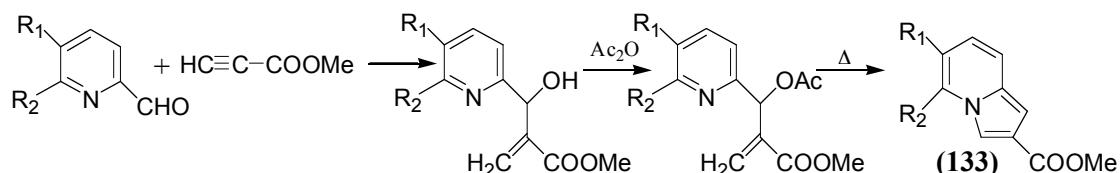
De exemplu, din halogenura de 1-alil-piridiniu (**127**), care în mediu bazic formează ilida instabilă (**128**), în urma unui atac 1,5 s-a obținut prin ciclizare internă, mai întâi derivatul hidroindolizinic (**129**), care prin dehidrogenare formează derivatul indolizinic (**130**) mai stabil⁽¹⁶⁹⁾.



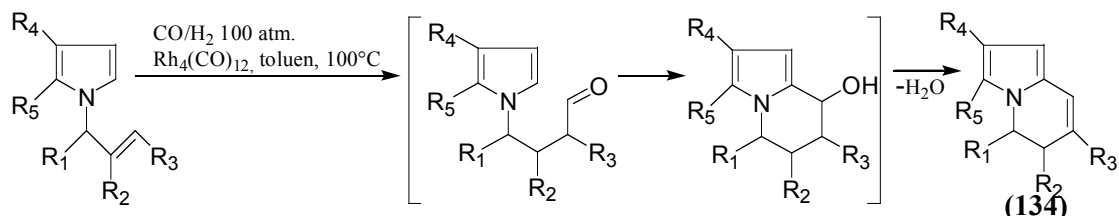
Reacții asemănătoare de ciclizare internă apar și în cazul piridiniu-ilidelor cu substituenți etinilici în poziția α a nucleului piridinic. Astfel, la tratarea sărurilor de 2-etinil-N-fenacil-piridiniu (**131**) cu reactanți bazici se obțin în final derivații de 3-benzoil-indolizină (**132**)⁽¹⁷⁰⁾.



Bode și al.⁽¹⁷¹⁾ au sintetizat o serie de indolizine 2-substituite (**133**) prin ciclizarea termică a unor derivați 2-piridilici.



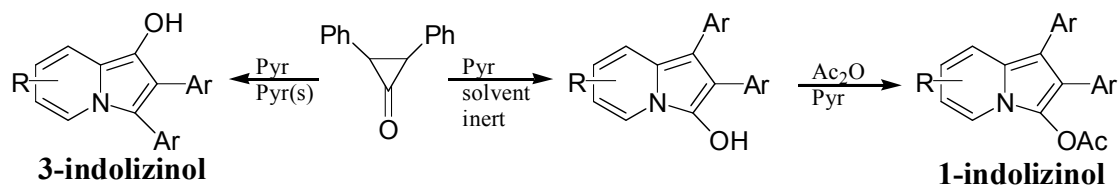
Derivați de 5,6-dihidroindolizină (**134**) au fost sintetizați printr-o reacție de hidroformilare, plecând de la 1-alil-pirololi sau derivați 2-formilați ai acestora⁽¹⁷²⁻¹⁷³⁾.



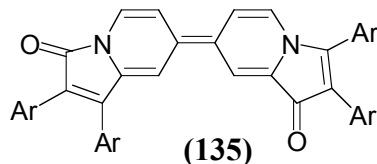
O nouă serie de indolizine au fost sintetizate și printr-o reacție de heterociclizare [4+2] indusă electrochimic dintre 2-vinilpirololi și enamine β-substituite.⁽¹⁷⁴⁾

Difenilciclopropenonele reacționează ușor cu N-heterocicli aromatici, conducând la aza- și benzoazaindolizolini.

Astfel, Hadsworth și Weidner⁽¹⁷⁵⁻¹⁷⁶⁾ au obținut prin reacția diarilciclopropenonei cu piridine și picoline, 1- sau 3-indolizolini, în funcție de condițiile de reacție și substituenți. Tratarea prelungită a difenilciclopropenonei cu izochinolină sau chinolină conduce la benzoindolizolini,

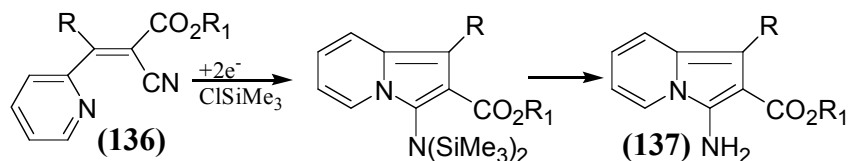


Prepararea indolizinelor în prezența aerului sau a oxidanților ($\text{Cu}(\text{OAc})_2$, benzochinonă sau cloranil) conduce la obținerea unor coloranți 1,1'- sau 3,3'-dioxodimerici-7,7'-bisindolizini (**135**). Acești coloranți au putut fi obținuți și prin reacția diarilciclopropenonei cu 4,4'-bipiridil, în dioxan, urmată de oxidare.

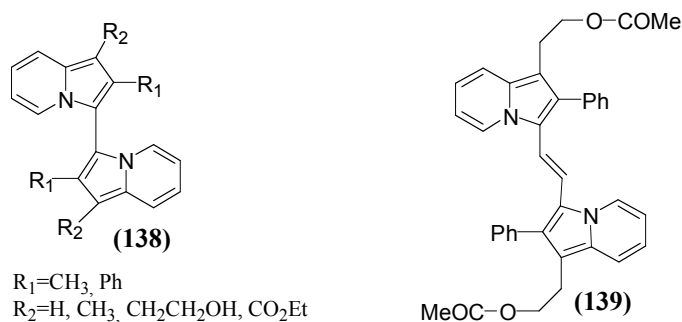


Prin aceeași metodă, Gundersen și colab. au sintetizat noi serii de indolizine-1-substituite, cu puternică activitate inhibitoare asupra peroxidării lipidelor *in vitro*, și asupra 15-lipooxigenazei, posibil datorită unui mecanism cu cedare de electroni.^(39,41,43)

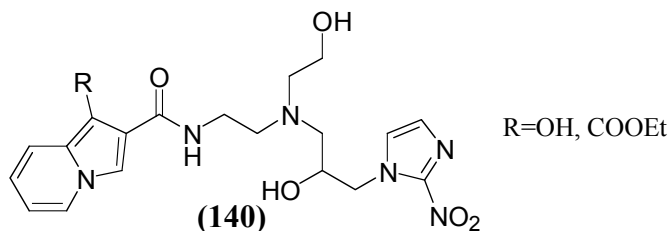
Plecând de la 2-ciano-3-(2-piridil)metilacrilatii (**136**), prin reducere electrochimică în prezența clorometilsilanului, Troll și colab.⁽⁵¹⁾ au sintetizat o nouă serie de indolizine substituie (**137**), ce prezintă fluorescență puternică atât în soluție cât și în stare solidă.



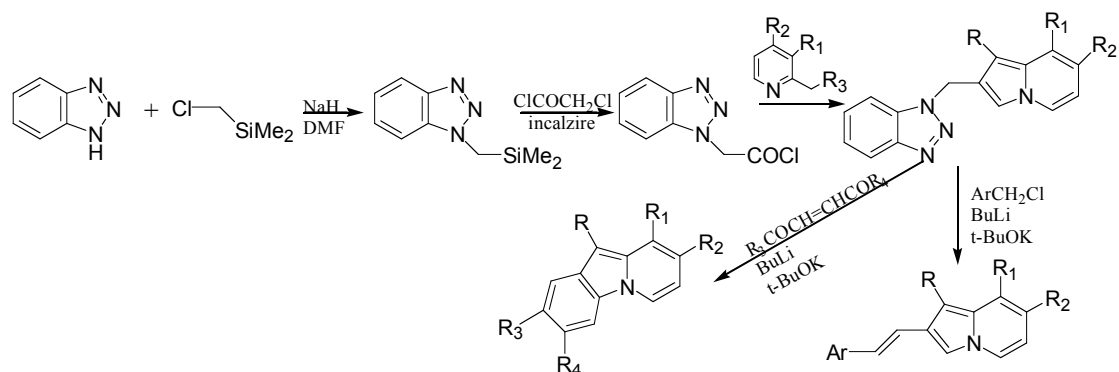
În scopul obținerii de fluorofori cu absorbție și emisie la lungimi de undă mari, cu posibile aplicații ca markeri biologici, Sonnenschein și colab. au sintetizat noi bisindolizine 3,3'-substituie (**138-139**), prin reacția Cicibabin sau printr-un proces de dimerizare oxidativă pe catalizator de Pd/C.^(50, 177)



Tot ca fluorofori cu aplicații în medicină au fost sintetizate și indolizinele de tipul (**140**).⁽¹⁷⁸⁾

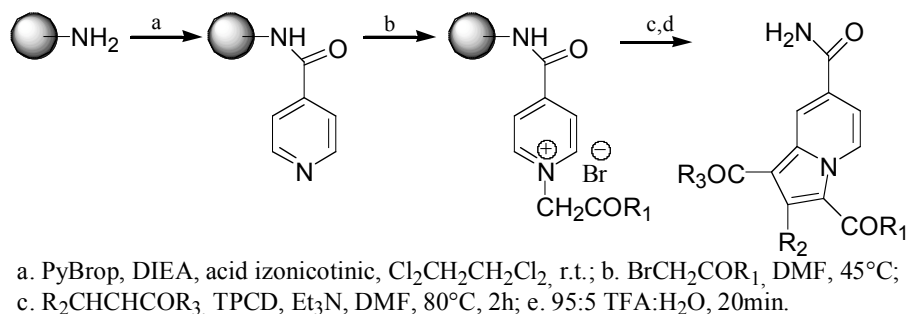


Recent, a fost propusă o metodă de sinteză a indolizinelor, bazată pe următoarele transformări⁽¹⁷⁹⁾:

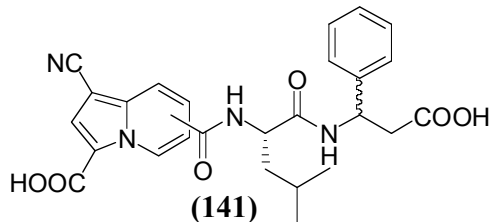


În ultimii ani, interesul cercetătorilor s-a îndreptat spre studierea metodelor combinatoriale de sinteză a indolizinelor, în special a sintezelor multicomponent și a celor pe suport solid.

Astfel, Goff⁽¹⁸⁰⁾ a realizat sinteza în fază solidă a indolizinelor trisubstituie utilizând cicloadiția [3+2]dipolară a sărurilor de piridiniu, legate pe rășină Rink, cu (2,4-diclorfenil)but-1-en-3-ona, în prezența TEA și a TPCD ca agent de oxidare.

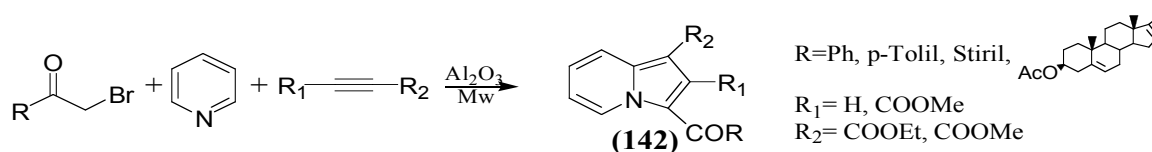


Tot prin sinteza în fază solidă, din săruri de piridiniu legate pe rășina de tip clorură de tritilolistiren (TCP) prin cicloadiție 1,3-dipolară cu acrilonitril, în prezența TEA și TPCD, Weide și colab.⁽³⁸⁾ au sintetizat o serie de 1-carbonitril-3-carboxi-indolizine (**141**), cu activitate inhibitoare asupra fosfatazelor ce intervin în bolile infecțioase.

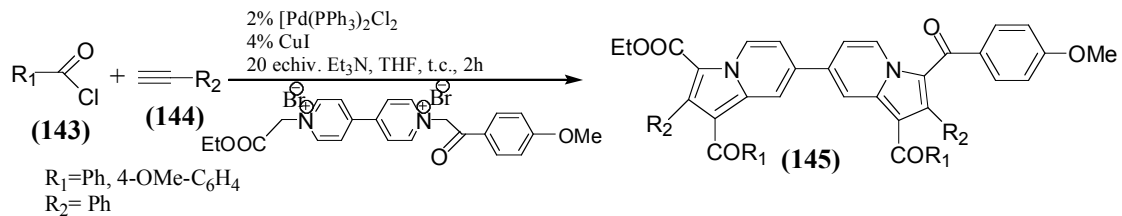


Dinică și al.^(35, 181) au realizat sinteza în fază solidă sub iradiere cu microunde a unor 7,7'-bis-indolizine simetrice, cu puternice proprietăți fluorescente, prin cicloadiție 1,3-dipolară a alchinilor activate cu 4,4'-bipiridiniu-ilidele, generate *in situ* din sărurile cuaternare de 4,4'-bipiridiniu corespunzătoare, pe KF/alumină.

Tot în fază solidă, pe alumină bazică, sub iradiere cu microunde, Boruah și colab.⁽¹⁸²⁾ au realizat sinteza indolizinelor (**142**), prin reacția tricomponent „one-pot” a bromurilor de acil, piridinelor și alchinilor activate.



Recent, Rotaru și al.⁽¹⁸³⁾ au sintetizat noi bisindolizine **(145)** nesimetrice printr-o reacție tricomponent „one-pot” de cuplare/cicloadiție 1,3-dipolară a clorurilor acide de aril **(143)** cu alchine terminale **(144)** și sărurile monocuaternare de 4,4'-bipiridiniu corespunzătoare.



RECHERCHES PERSONNELLES

III. SYNTHÈSES ORGANIQUES

III.1. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DES SELS QUATERNAIRES DE 4,4'-BIPYRIDINIUM

Comme on l'a montré dans la partie introductive, l'intérêt actuel présenté par la synthèse des nouveaux sels quaternaires dérivés de la 4,4'-bipyridine est dû au fait qu'elles représentent des précurseurs pour la synthèse de nouveaux hétérocycles par les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire, ainsi que par les propriétés de cette classe de composés avec des applications dans divers domaines d'activité (comme herbicides, agents de transfert des électrons, sensibilisateurs pour les émulsions photographiques ou semiconducteurs)^(19-25, 184-186).

Dans ce contexte, la première étape de nos recherches a été la synthèse et la caractérisation des nouveaux sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium, symétriques et non-symétriques.

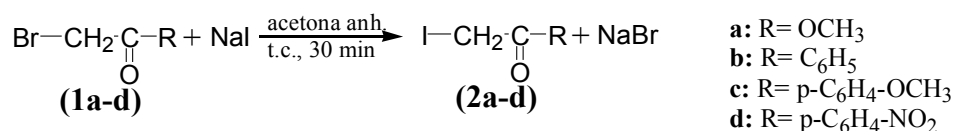
Ainsi, à partir de l'analyse des données présentées dans la littérature⁽⁵²⁻⁵⁷⁾, on a considéré que la méthode la plus avantageuse pour la synthèse des sels mono- et diquaternaires de 4,4'-bipyridinium est l'alkylation de la 4,4'-bipyridine avec des dérivés halogénés réactifs (halogénures d'alkyle, sulfates d'alkyle, α -halogènoesters ou α -halogènocétones), dans des solvants anhydres.

Les résultats expérimentaux présentés montrent que la 4,4'-bipyridine présente une grande disponibilité pour la participation aux réactions d'alkylation avec des dérivés halogénés réactifs, en conditions assez douces. Nous avons ainsi synthétisé 2 nouveaux sels diquaternaires symétriques et une série de 4 sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium, qui vont être utilisés par la suite comme précurseurs pour la synthèse des nouveaux hétérocycles indoliziniques, ainsi que pour diverses études (microbiologiques et physiques) et leurs applications.

III.1.1 Synthèse des réactifs iodés

En vue de leur utilisation comme agents d'alkylation dans la synthèse des sels diquatéraux non-symétriques de 4,4'-bipiridinium, on a réalisé dans une première étape la synthèse de certains réactifs iodés (**2a-d**) (iodo-méthyl-acétate et α -iodo-acétophenone).

Sinteza s-a efectuat pe baza unor metode indicate în literatură⁽¹⁸⁷⁻¹⁸⁹⁾ și constă în tratarea derivaților bromurați corespunzători (**1a-d**) (bromo-metil-acetat și respectiv α -brom-acetofenone) cu iodură de sodiu, în exces de 40%, în mediu de acetonă anhidră, la temperatura camerei. Reacția de schimb a halogenilor decurge după schema următoare:



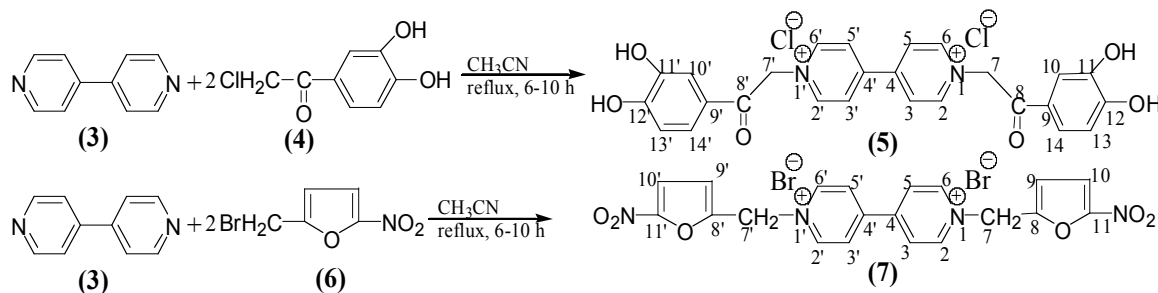
Producții halogenați doriți se obțin cu randamente foarte bune (90-99%), în stare suficient de pură, prin îndepărtarea bromurii de sodiu rezultate și al excesului de iodură de sodiu, evaporarea solventului și extracție cu cloroform. Puritatea compușilor sintetizați a fost verificată prin spectrometrie RMN (vezi partea experimentală). Randamentele de reacție și caracteristicile derivaților iodurați (**2a-d**) sunt redată în tabelul III.1.1. Rezultatele obținute sunt în concordanță cu cele indicate în literatură.

Tabelul III.1.1. Caracteristicile compușilor (**2a-d**)

Compus	Formula moleculară	Stare de agregare, culoare	Randament (%)	Deplasări chimice, δ (ppm), în spectrul ¹ H-RMN (300mHz, CDCl ₃)
(2a)	C ₃ H ₅ IO ₂	Lichid lacrimogen, slab galben	90%	3.76 (s, 3H: OCH ₃), 3.70 (s, 2H: CH ₂)
(2b)	C ₈ H ₇ IO	Cristale galben roșiatice	99%	7.96-7.99 (m, 2H: H-2', H-6'), 7.58 (t, <i>J</i> =7.39 Hz, 1H: H-4'), 7.47 (t, <i>J</i> =7.44 Hz, 2H: H-3', H-5'), 4.35 (s, 2H: CH ₂)
(2c)	C ₉ H ₉ IO ₂	Cristale alb-gălbui	96%	7.94 (d, <i>J</i> =9.04 Hz, 2H: H-2', H-6'), 6.92 (d, <i>J</i> =9.04 Hz, 2H: H-3', H-5'), 4.29 (s, 2H: CH ₂), 3.85 (s, 3H: OCH ₃)
(2d)	C ₈ H ₆ INO ₃	Cristale galben-bej	93%	8.34 (d, <i>J</i> =9.05 Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.15 (d, <i>J</i> =9.05 Hz, 2H: H-2', H-6'), 4.39 (s, 2H: CH ₂)

III.1.2. Synthèse des sels diquaternaires symétriques de 4,4'-bipyridinium

Utilisant les informations bibliographiques^(59-60, 190) concernant la synthèse des sels diquaternaires symétriques de 4,4'-bipyridinium, par la réaction de quaternisation de la 4,4'-bipyridine avec des dérivés halogénés réactifs, on a synthétisé deux nouveaux sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium (**5**, **7**), avec des structures complexes, selon le schéma suivant :



Astfel, prin reacția 4,4'-bipiridilului (**3**) cu 2-cloro-3',4'-dihidroxi-acetofenona (**4**) și respectiv 2-bromometil-5-nitro-furanul (**6**) s-au sintetizat următorii compuși:

- diclorura de N,N'-di(3,4-dihidroxi-fenacil)-4,4'-bipiridiniu (**5**);
- dibromura de N,N'-di(4'-nitrofuran)-4,4'-bipiridiniu (**7**).

Reacțiile au fost realizate în acetonitril anhidru, prin încălzire la reflux, sub agitare energetică, timp de 6-10 ore. Pentru a evita formarea sărurilor monocuaternare, s-a lucrat cu un mic exces (10%) de derivat halogenat.

Controlul evoluției reacției s-a efectuat prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC) cu detecție în absorbție UV-VIS. Probele prelevate din mediul de reacție au fost dizolvate, pentru injectare, în dimetilformamidă. Se constată, apariția la scurt timp după declanșarea reacției a unui nou compus, cu spectrul UV diferit de al bipiridilului, semnalul respectiv crescând în intensitate odată cu evoluția reacției, concomitent cu dispariția semnalelor compușilor de plecare. În condițiile de lucru folosite, sărurile sintetizate precipită imediat după formare, apariția precipitatului având loc la scurt timp după începerea reacției.

Reacțiile decurg cu randamente ridicate (70-95%), sărurile obținute având un grad de puritate destul de ridicat ce a fost verificat prin cromatografie HPLC, prin spectroscopie RMN și cu ajutorul analizei elementale.

Structura compușilor sintetizați a fost verificată prin analize elementale și spectrale (^1H -RMN).

Spectrele RMN au fost înregistrate în DMSO- d_6 , cu un mic adaos de TFA, datorită solubilității reduse a produșilor.

Analizând spectrele ^1H -RMN ale sărurilor (**5**, **7**) putem observa că:

- protonii grupărilor CH_2 din pozițiile 7 și 7' apar la deplasări chimice de 6.22-6.47 ppm;
- la deplasări chimice mari ($\delta = 8.85 - 9.51$ ppm), datorită efectului de dezecranare produs de atomul de azot cuaternar, apar semnalele protonilor H-2, H-6, H-2' și H-6' sub forma unor dubleți cu constantele de cuplaj $J=6.96-6.92$ Hz;
- semnalele protonilor din pozițiile 3, 5, 3' și 5', apar tot în zona aromatică, la câmpuri mai ridicate ($\delta = 8.68-8.84$ ppm), sub formă de dubleți ($J = 6.96-6.92$ Hz), datorită cuplării lor cu protonii din pozițiile 2, 6, 2' și 6';
- tot în zona aromatică, apar și semnalele protonilor inelelor fenilice și respectiv furanice, la $\delta = 7.03-7.74$ ppm, sub forma de dubleți sau multipleți;
- în cazul compusului (**5**), la valorile cele mai ridicate ale deplasărilor chimice, $\delta=9.29-9.23$ ppm, apar semnalele protonilor celor 4 grupări OH, sub forma unui multiplet.

Sărurile (**5**, **7**) sunt substanțe stabile, solide, cristaline, de culoare deschisă (gri, bej), cu puncte de topire ridicate (Tabelul III.1.2). La tratare cu soluții diluate de baze (NaOH sau KOH) se manifestă proprietatea specifică viologenilor de a-și modifica culoarea în mediu bazic, la roșu-violet, datorită trecerii în forma ilidică, colorată.

Tabelul III.1.2. Caracteristicile fizico-chimice ale sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu (**5**, **7**)

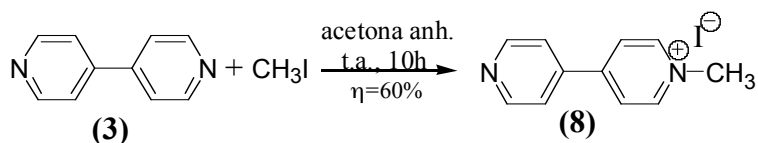
Compusul	Formula moleculară	Masa moleculară (g/mol)	Stare de agregare, culoare	p.t. (°C)	Randament (%)
(5)	$\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_6$	529	Cristale gri	302-303	70
(7)	$\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_6$	568	Cristale bej	255-256	95

III.1.3. Synthèse des sels diquaternaires non symétriques de 4,4'-bipyridinium

En vue de l'obtention ultérieure des nouveaux composés indoliziniques, avec des structures favorables à une utilisation dans des applications biologiques, on a réalisé la synthèse d'une nouvelle série de sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium.

En conformité avec les données bibliographiques existantes concernant la synthèse des sels diquaternaires non-symétriques^(18, 36, 59), la stratégie de synthèse choisie suppose deux étapes de travail.

Astfel, într-o primă etapă am realizat sinteza iodurii de 1-metil-4(4'-piridil)-piridiniu (8), prin cuaternizarea 4,4'-bipiridilului, în exces (vezi partea experimentală), cu iodură de metil, în cantități minime de acetonă anhidră, la temperatura ambiantă, timp de 10 ore.



În cadrul cercetărilor noastre am încercat mai multe condiții de reacție pentru sinteza iodurii de N-metil-4,4'-bipiridiniu, conform cu indicațiile bibliografice^(5, 20, 33) găsite, dar de fiecare dată, rezultatul a fost obținerea unui amestec de reacție format din sărurile mono- și dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu, foarte greu de separat (vezi tabelul III.1.3.).

Tabelul III.1.3. Metode de sinteză pentru iodura de 1-metil-4(4'-piridil)-piridiniu (8)

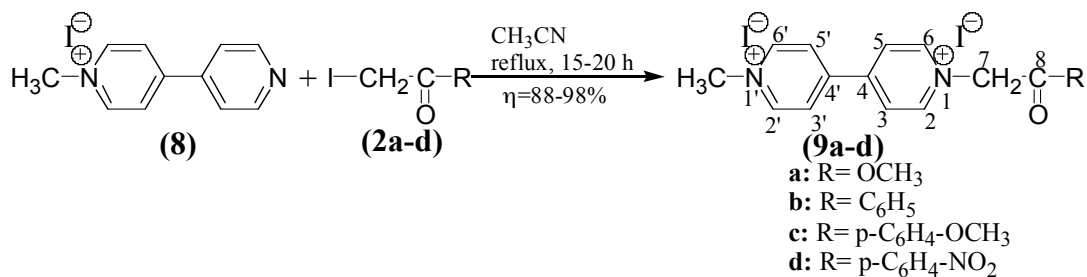
Condiții de reacție	Randament (%)	Punct de topire (°C)	Referința bibliografică
MeOH anh. reflux, 3h	72	178-179	<i>Bull. Soc. Chim. Fr.</i> , 133, 369, 1996
CH ₃ CN, 60°C, 5h	50	248-249	<i>Tetrahedron</i> , 37 (24), 4185, 1981
CH ₂ Cl ₂ , reflux, 2h	95	248	<i>Tetrahedron</i> , 60, 6137, 2004
(CH ₃) ₂ CO anh. t.a., 10h	60	254-255	<i>Pakistan Journal of Applied Science</i> , 2(2), 145, 2002

Cele mai bune rezultate din punct de vedere al purității produsului final s-au obținut la utilizarea ca solvent a acetonei anhidre, la temperatura ambiantă, metoda fiind utilizată anterior⁽¹⁹¹⁾ și pentru obținerea altor săruri monocuaternare de 4,4'-bipiridiniu. Astfel, în aceste condiții, este favorizată precipitarea sării monocuaternare imediat după formare, eliminându-se reacțiile secundare care pot avea loc în stare solvită, printre care și formarea sărurilor dicuaternare. De asemenea, utilizarea unui mic exces de 4,4'-bipiridil contribuie la eliminarea formării sărurilor dicuaternare.

Iodura de N-metil-4,4'-bipiridiniu (**8**) s-a obținut cu un randament satisfăcător de 60%, sub formă de cristale galbene, cu un grad de puritate ridicat, ce permite utilizarea sa în etapa următoare, fără o purificare prealabilă. Puritatea și structura compusului sintetizat au fost verificate cu ajutorul spectroscopiei ¹H-RMN și ¹³C-RMN, precum și prin trasarea spectrului de masă, prin metoda ionizării chimice (DCI) și respectiv prin metoda nano-electrospray (ESI), rezultatele obținute fiind în acord cu datele din literatură (vezi partea experimentală).

În cea de a doua etapă, sarea monocuaternară (**8**) a fost folosită ca material de plecare pentru sinteza sărurilor dicuaternare nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu, prin alchilarea celui de al doilea atom de azot, cu derivați halogenați reactivi (halogenoesteri și halogenocetone).

Metoda de sinteză aplicată constă în dizolvarea iodurii de 1-metil-4(4'-piridil)-piridiniu în acetonitril, la fierbere, concomitent cu adăugarea derivatului halogenat, în exces de 50%. Reacția decurge printr-un mecanism de substituție nucleofilă (SN) la atomul de carbon din poziția α față de gruparea carbonil a derivatului halogenat, așa cum se poate vedea din schema următoare:



Pe această cale, folosind ca agenți de alchilare derivații iodurați (**2a-d**), s-au sintetizat sărurile dicuaternare nesimetrice (**9a-d**):

- diiodura de N-metil-N'-carbometoxi-metil-4,4'-bipiridiniu (**9a**);
- diiodura de N-metil-N'-fenacil-4,4'-bipiridiniu (**9b**);
- diiodura de N-metil-N'-(para-metoxi-fenacil)-4,4'-bipiridiniu (**9c**);
- diiodura de N-metil-N'-(para-nitro-fenacil)-4,4'-bipiridiniu (**9d**).

Controlul evoluției reacției s-a realizat prin cromatografie HPLC cu detecție în absorbție UV-VIS, probele prelevate din amestecul de reacție fiind dizolvate pentru injectare, în metanol. S-a evidențiat astfel, apariția semnalului unui nou produs imediat după începerea reacției, ceea ce coincide cu apariția în mediul de reacție a unui precipitat. În finalul reacției, în cromatogramă se poate constata prezența unui singur produs de reacție, cu spectrul UV diferit de cel al produșilor de plecare, ceea ce indică absența unor reacții secundare, compușii doriți fiind izolați cu randamente de reacție excelente, de 88-98%.

Sărurile (**9a-d**) sintetizate sunt substanțe solide, cristaline, de culoare roșu-portocalie, stabile în timp, cu puncte de topire ridicate (tabelul III.1.4.).

Tabelul III.1.4. Caracteristicile fizico-chimice ale sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu (**9a-d**)

Compusul	Formula moleculară	Masa moleculară (g/mol)	Stare de agregare, culoare	p.t. (°C)	Randament (%)
(9a)	C ₁₄ H ₁₆ I ₂ N ₂ O ₂	498	Cristale roșu-cărămizii	>350	88
(9b)	C ₁₉ H ₁₈ I ₂ N ₂ O	544	Cristale roșu-portocalii	248-250	89
(9c)	C ₂₀ H ₂₀ I ₂ N ₂ O ₂	574	Cristale roșu-portocalii	260-262	98
(9d)	C ₁₉ H ₁₇ I ₂ N ₃ O ₃	589	Cristale roșii	235-236	88

Produșii sintetizați prezintă un grad de puritate avansat, putând fi utilizați în continuare, ca precursori în sinteza heterociclicilor indoliziniici sau pentru alte studii, fără o purificare prealabilă. Puritatea acestor săruri a fost verificată prin cromatografie HPLC, și prin analize spectrale și elementale.

În tabelul III.1.5. sunt prezentate caracteristicile cromatogramelor obținute în analiza HPLC pentru cristalele separate din mediul de reacție prin filtrare, urmată de spălarea cu acetonitril la fierbere și uscare sub vid.

Tabelul III.1.5. Caracteristicile cromatogramelor HPLC pentru sărurile (9a-d)

Compusul	Substituentul R	Timp de retenție (min)	$\lambda_{\max}$ (nm)
(9a)	OCH ₃	2.36	259.2
(9b)	C ₆ H ₅	4.36	260.3
(9c)	p-C ₆ H ₄ -OCH ₃	4.98	286.3
(9d)	p-C ₆ H ₄ -NO ₂	4.87	269.8

Structura sărurilor obținute a fost dovedită prin analize elementale și spectrale, (RMN, IR și SM).

Astfel, atribuirea semnalelor protonilor s-a realizat prin experimente ¹H-RMN și 2D (¹H-¹H) COSY. Analiza spectrelor ¹H-RMN obținute pun în evidență următoarele caracteristici generale:

- prezența grupării N⁺-CH₃ este confirmată de apariția unui singlet, la deplasări de 4.46-4.47 ppm; deplasarea semnalului spre valori mai mici ale câmpului magnetic se datorează efectului inductiv (-I) al azotului cuaternar asupra grupării metil;

- protonii grupărilor CH₂ din poziția 7 apar sub forma unui singlet, la valori destul de mici ale câmpului (δ = 5.77-6.63 ppm), datorită atât vecinătății cu atomul de azot cuaternizat, cât și influenței restului carbometoxi sau benzoilic substituit;

- în regiunea aromatică, spre câmpurile cele mai mici (δ = 9.27-9.33 ppm), regăsim semnalele corespunzătoare protonilor inelelor piridinice (H-2, H-6 și H-2', H-6') din vecinătatea atomilor de azot, care apar sub forma unor dubleți cu constante de cuplaj J~6.8-7.07 Hz, datorită cuplajului cu protonii din pozițiile 3, 5 și 3', 5'; aceste deplasări chimice mari se datorează atât efectului de dezecranare al atomilor de azot cuaternari cât și faptului că acești protoni se găsesc în zonele de dezecranare anizotropă indusă de ciclurile heteroaromate,

- la câmpuri mai ridicate ($\delta = 8.78\text{-}8.92$ ppm) apar dubleții furnizați de cei patru protoni H-3, -H-5 și H-3', H-5' ($J \sim 6.8\text{-}7.07$ Hz);

- tot în regiunea aromatică, între 7.21-8.51 ppm, apar semnalele protonilor inelului fenilic, a căror deplasare chimică (δ) este în funcție de natura substituentului de pe inelul aromatic;

- în cazul compușilor (**9a**) și (**9c**), în regiunea alifatică, se observă și prezența semnalelor corespunzătoare grupărilor OCH_3 , sub forma unor singleți la $\delta = 3.82\text{-}3.92$ ppm.

Cuplajele protonilor din inele heterociclice și fenilice sunt confirmate și de experimentele 2D COSY, după cum se poate vedea în figura III.1.1., pentru cazul compusului (**9d**).

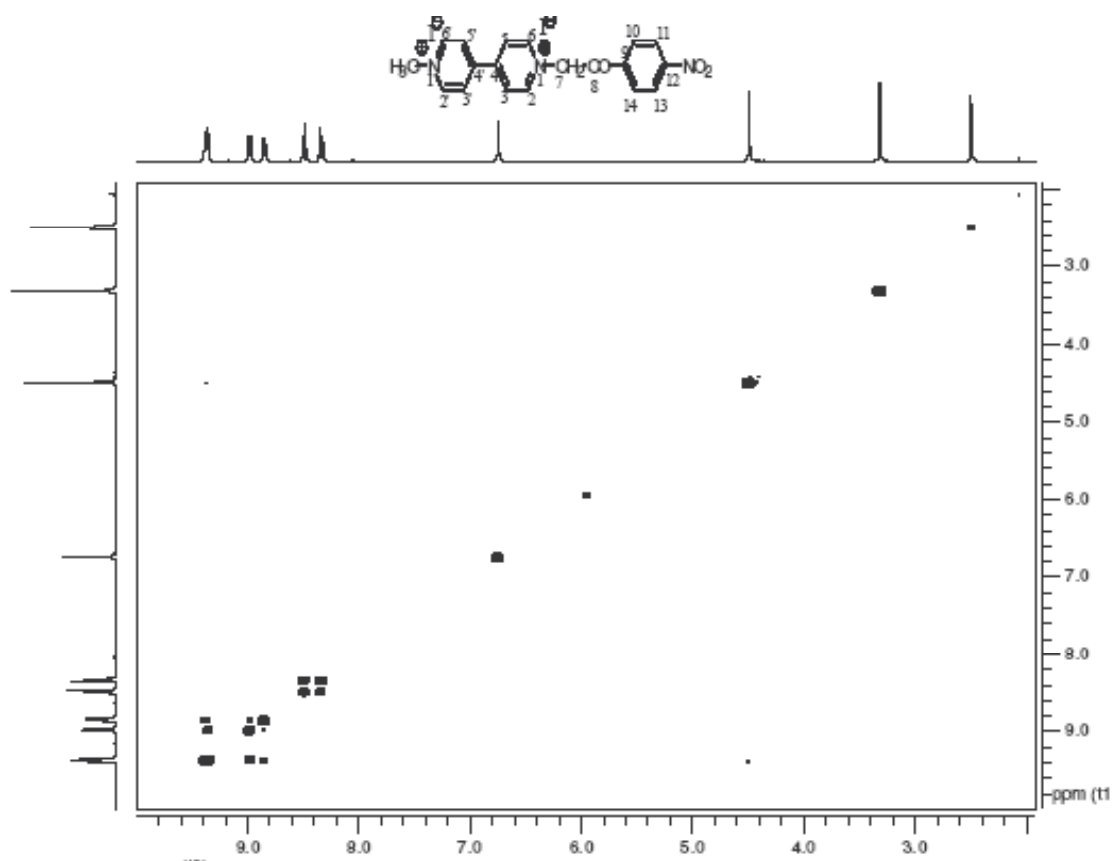


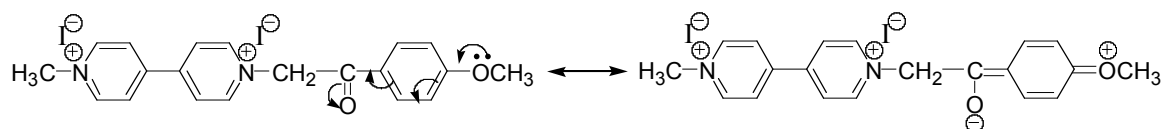
Figura III.1.1. Spectrul 2D (^1H - ^1H) COSY (300 MHz, DMSO-d_6) al compusului (**9d**).

Spectrele ^{13}C -RMN, înregistrate folosind secvența de impuls C13mult, de tip INADEQUAT, care permite atât atribuirea deplasărilor cât și determinarea naturii (primar, secundar, terțiar, cuternar) a atomilor de carbon, vin să confirme de asemenea structura compușilor sintetizați.

Astfel, în cazul compușilor (**9b-d**) la 188-189 ppm apare semnalul unui carbon cuaternar, datorat grupării carbonil cetonice din poziția 8. Gruparea carbonil esterică, a compusului (**9a**), furnizează un semnal cuaternar la 166 ppm. La aproximativ 47 ppm, apare semnalul carbonului grupei metil legată la atomul de azot piridinic, în timp ce grupările metil ale restului OCH_3 apar la 53-55 ppm. Tot la deplasări chimice mici (~ 60 -66 ppm) apar semnalele atomilor de carbon ale grupărilor metilen din pozițiile 7. Ceilalți atomi de carbon apar în spectru la deplasări chimice și cu intensități în concordanță cu structurile propuse.

Spectrele IR ale compușilor (**9a-d**), înregistrate în stare cristalină, folosind tehnica Atenuării Reflexiei Totale (ATR – Atenuator Total Reflectance), furnizează o serie de semnale caracteristice, care au ajutat la confirmarea structurii sărurilor dicuaternare sintetizate.

Astfel, gruparea carbonil esterică a compusului (**9a**) furnizează o bandă intensă la 1740 cm^{-1} . Grupările C=O cetonice ale compușilor (**9b-d**), absorb în spectrul IR la numere de undă mai mici, 1674 - 1698 cm^{-1} , în funcție de natura substituenților grefați pe nucleul fenilic. Se poate constata că, atunci când în poziția para a nucleului aromatic este o grupare cu efect $-I$ mic și $+E$ mare (de exemplu: OCH_3 cu efect puternic $+E$), ordinul de legătură al grupării carbonil este micșorat sensibil, datorită deplasării electronilor prin conjugare, conform structurilor limită din schema următoare:



Din contră, în cazul compusului (**9d**), când în poziția para a nucleului fenilic se găsește o grupare nitro, cu efect atrăgător de electroni ($-I$ și $-E$), deplasarea electronilor are loc în sens invers, ducând la o creșterea ordinului de legătură al grupării carbonil (1698 cm^{-1}).

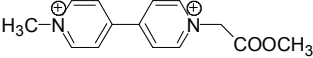
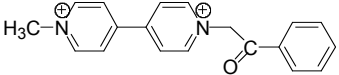
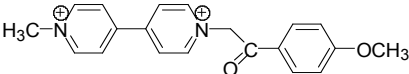
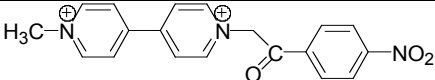
În spectrul IR al compusului (**9d**) se poate observa și prezența a două benzi intense, la 1527 cm^{-1} și 1341 cm^{-1} , ce au fost atribuite vibrațiilor de valență simetrică și nesimetrică ale grupei NO_2 . Celelalte benzi de absorbție apar la numere de undă corespunzătoare structurilor propuse, fiind în concordanță cu datele din literatură.

Având în vedere caracterul ionic al compușilor sintetizați, în spectrometria de masă, metoda cea mai potrivită pentru analiza sărurilor (**9a-d**) o constituie metoda

electrospray-ului (ESI), prin care în spectrele de masă regăsim ca pic de bază semnalul furnizat de ionii organici $[M^{2+}-H^+]$, cu mase cuprinse între 243 și 334, unde M^{2+} reprezintă masa scheletului organic din molecula sărurilor dicuaternare. Excepție face produsul (**9c**), pentru care acest pic are intensitatea 60%, picul de bază fiind cel al fragmentării $[(M^{2+}-COC_6H_4OCH_3)^+]$. În cazul înregistrării spectrului de masă, prin ionizare chimică (DCI), regăsim ca pic de bază masa bipiridilului (156 ± 1), precum și alte semnale datorate fragmentărilor „oniu” și a legăturilor carbon-heteroatom, care au fost atribuite corespunzător (vezi partea experimentală). Înregistrarea spectrului de masă, prin ionizare chimică, în modul negativ, pune în evidență picul de masă 126.8-126.9, corespunzător contraionului I^- .

Interesant de menționat sunt rezultatele obținute în cadrul cercetărilor noastre, la utilizarea pentru sinteza sărurilor dicuaternare nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu, a alchilării iodurii de N-metil-4,4'-bipiridiniu (**8**) cu derivați bromurați reactivi (brom-acetat de metil și 2-bromo-acetofenone substituite). În urma analizelor elementale efectuate asupra produșilor de reacție obținuți, am descoperit că sărurile dicuaternare sintetizate sunt de fapt un amestec de săruri bromurate și iodurate, în care contraionii sunt în proporție de 4/3 Br și 2/3 I, după cum se poate vedea din datele prezentate în tabelul III.1.6.

Tabelul III.1.6. Rezultate analiză elementală

Structura dicationului	Formula brută	Rezultate microanaliză	
		Calculat	Găsit
	$C_{42}H_{48}Br_4I_2N_6O_6$	%C 38,62 %H 3,70 %N 6,43	%C 38,93 %H 3,78 %N 6,48
	$C_{57}H_{54}Br_4I_2N_6O_3$	%C 47,39 %H 3,77 %N 5,82	%C 47,31 %H 3,89 %N 5,88
	$C_{60}H_{60}Br_4I_2N_6O_6$	%C 46,96 %H 3,94 %N 5,48	%C 46,89 %H 3,97 %N 5,42
	$C_{57}H_{51}Br_4I_2N_9O_9$	%C 43,34 %H 3,25 %N 7,98	%C 43,57 %H 3,42 %N 7,83

III.2. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION DES CYCLOADDUITS INDOLIZINIQUES

Comme on l'a montré dans l'introduction, la littérature accorde aux produits indoliziniques un place importante parmi les hétérocycles, une grande partie des indolizines étant des molécules biologiquement actives, antioxydants potentiels, inhibiteurs de la 15-lipooxygénase, antagonistes du calcium ou ligands pour les récepteurs de l'œstrogène⁽³⁸⁻⁴⁸⁾. En même temps, considérant les propriétés fluorescentes bien-connues des dérivés indoliziniques^(49-51, 192) et tenant compte de l'augmentation de l'importance de la spectroscopie de fluorescence pour les analyses biologiques et environnementales, nous nous sommes proposés comme une autre étape de nos recherches de synthétiser des nouveaux composés indoliziniques, comme systèmes avec des applications surtout dans l'analyse fluorimétrique.

La bibliographie place les réactions de cycloaddition [3+2] dipolaires comme méthodes de synthèse importantes pour les pentahétérocycles et en particulier pour le noyau indolizine⁽¹⁴⁵⁻¹⁶⁵⁾.

Dans ce contexte, dans les dernières années, notre groupe de recherche a été préoccupé par la synthèse et la caractérisation de nouvelles séries des composés mono- et bis-indoliziniques, par des réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire ayant comme substrats de départ les sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium et différents dipolarophiles activés, acétylènes ou oléfines^(35-36, 103, 181, 183). Les mono- et bis-indolizines, ainsi synthétisés, symétriques ou non-symétriques, présentent des propriétés fluorescentes intéressantes, mais leur solubilité réduite les rend très difficiles à utiliser pour des éventuelles applications biologiques.

Par conséquent, dans cette thèse, on a essayé de réaliser la synthèse, par des réactions de cycloaddition, des nouveaux fluorophores de type indoliziniques, qui présentaient une solubilité élevée, spécialement dans l'eau, en vue de leur utilisation dans des systèmes biologiques. En même temps, on a suivi la fonctionnalisation adéquate de ces produits, en vue de leur greffage, comme marqueurs fluorescents, sur les biomolécules (peptides, acides nucléiques etc.).

Considérant la littérature, on a choisi comme précurseurs pour la synthèse du noyau indolizine, les sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium, à cause de leur tendance de former en milieu basique faible, les 4,4'-bipyridinium-ylures, produits „zwittérioniques” très réactifs, avec un caractère nucléophile, qui peuvent réagir

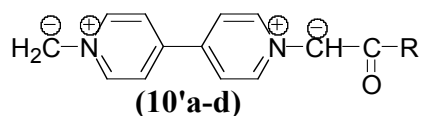
comme 1,3-dipôles dans les réactions de cycloadditions avec les dipolarophiles activés.

Tenant compte des applications suivantes visées pour les composés indoliziniques synthétisés (l'utilisation comme marqueurs biologiques fluorescents) on s'est intéressé à l'obtention des structures de type mono-indolizines, non-symétriques. Aussi, pour augmenter la solubilité, en particulier dans l'eau, la stratégie abordée a été de créer un reste de type sel quaternaire d'ammonium, dans la structure du produit indolizinique final.

Donc, nous nous sommes proposés d'étudier la synthèse de nouvelles séries de pyridinium-indolizines substituées, solubles dans l'eau, autant de point de vue du mécanisme des réactions de cycloaddition que de point de vue des propriétés des produits finaux. Comme réactifs de départ pour cette étude, on a choisi les sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium (**9a-d**), antérieurement synthétisés et les dipolarophiles de type alcynes non-symétriques (propiolate d'éthyle et propiolate de 4-nitro-phenyle). En même temps, on a étudié l'influence de l'activation sous micro-ondes de la réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire dans le cas de la synthèse des pyridinium-indolizines, ainsi que la possibilité de fonctionnaliser les nouveaux cycloadduits indolisiniques obtenus en vue de leur greffage sur des biomolécules. Tous les nouveaux produits synthétisés ont été caractérisés par analyses spectroscopiques (RMN, IR, SM) et microanalyse.

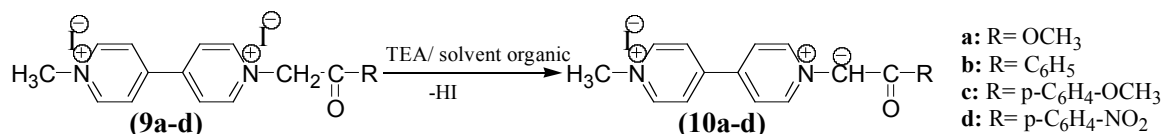
Formarea nucleului indolizinic plecând de la sărurile cuaternare de 4,4'-bipiridiniu, presupune obținerea „*in situ*” a 4,4'-bipiridiniu-ilidelor. Astfel, folosind datele experimentale indicate în literatură, pentru sinteza bisindolizinelor^(36, 103, 151), am ales pentru obținerea ilidelor, metoda „sării” propusă de Khrönke⁽¹⁰²⁾, ce presupune dehidrohalogenarea sărurilor de bipiridiniu, prin tratarea cu reactivi bazici (ex.: TEA, KF).

Teoretic, în aceste condiții, sărurile dicuaternare nesimetrice (**9a-d**) ar putea să conducă la obținerea unor bis-ilide nesimetric substituie (**10'a-d**).

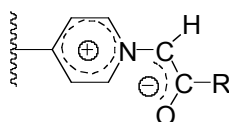


În realitate, datorită considerentelor structurale legate de stabilitatea bipiridiniu-ilidelor, prezentate în capitolul II.1.2., sărurile dicuaternare nesimetrice

(9a-d), vor conduce în prezența bazelor, la formarea „*in situ*” a mono-ilidelor carbanion monosubstituite (10a-d), conform reacției:

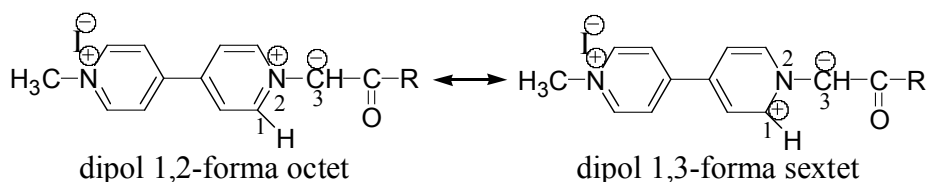


Această comportare se datorează prezenței resturilor carbometoxi și respectiv benzoilice, care prin efectul lor atrăgător de electroni permit formarea și stabilizarea acestor ilide, datorită atât delocalizării sarcinii carbanionice, cât și delocalizării sarcinii cationice de pe N, în inelul piridinic, după cum se poate vedea din structura următoare:

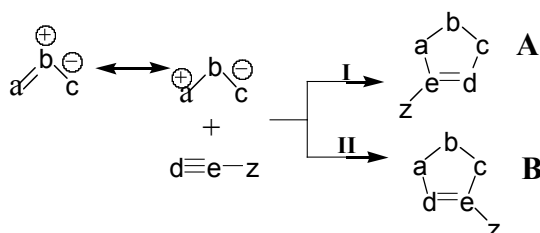


Pe de altă parte, formarea piridiniu-metilidelor nesubstituite ar necesita energii de activare foarte mari pentru smulgerea unui proton.

Prin urmare mono-ilidele (10a-d) sunt cele care vor participa în continuare la reacțiile de cicloadiție [3+2] dipolară, datorită caracterului acestora de 1,3-dipoli fără dublă legătură, care apar în condiții dinamice (mediu de reacție, reactanți) prin delocalizarea sarcinii pozitive a atomului de azot cuaternar la unul din atomii adiacenți ai nucleului piridinic, conform structurilor limită de mai jos:



În cazul reacțiilor de cicloadiție dintre un 1,3-dipol și un dipolarofil nesimetric, se pune problema regiochimiei, reacția putând să decurgă în dublu sens, cu formarea a doi regioizomeri diferiți, datorită factorilor orbitali, sterici și electronici^(144, 145). Astfel, reacțiile de cicloadiție ale unui dipol 1,3 (a⁺-b-c⁻) cu un dipolarofil acetilenic mono-substituit (d≡e-z), se pot desfășura pe două căi diferite (I, II) cu formarea a doi regioizomeri (A și B), conform schemei:



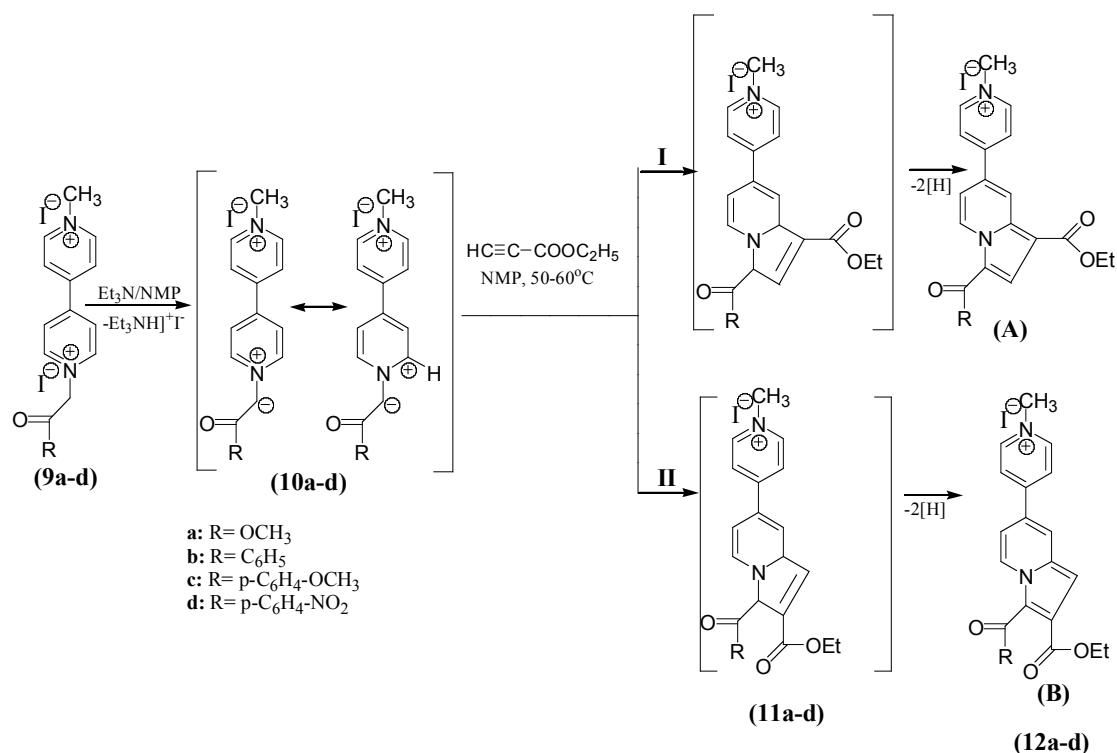
Cercetările anterioare^(103, 108, 193) efectuate asupra reacțiilor de cicloadiție 1,3-dipolare a 4,4'-bipiridiniu-bis-ilidelor simetrice și nesimetrice cu alchine nesimetrice, au dovedit atât teoretic cât și experimental că reacția de cicloadiție este complet regioselectivă, conducând la obținerea unui singur regioizomer.

În cazul lucrării de față, ne-am propus verificarea din punct de vedere experimental, a respectării regioselectivității în cazul reacției de cicloadiție a 4,4'-bipiridiniu-ilidelor (**10a-d**), obținute „*in situ*” din sărurile corespunzătoare, cu esteri propiolici (propiolat de etil și propiolat de 4-nitro-fenil).

III.2.1. Synthèse des cycloadduits indoliziniques de sels diquaternaires non symétriques de 4,4'-bipyridinium et propiolate d'éthyle

Tenant compte des considérants théoriques et applicatifs présentés antérieurement, on a réalisé expérimentalement l'étude de la réaction de cycloaddition [3+2]-dipolaire des sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium (**9a-d**) avec propiolate d'éthyle, en milieu basique. Ils ont été synthétisés comme ça, une série des 4 nouveaux cycloadduits indoliziniques (**12a-d**), qui contient dans leur molécule, un reste de sel du pyridinium, en position 7 du noyau indolizine.

Întrucât metoda presupune utilizarea unui dipolarofil asimetric, teoretic, reacțiile care au loc ar fi putut decurge conform schemei următoare:



În practică, reacția 4,4'-bipiridiniu-ilidelor cu propiolatul de etil are loc regioselectiv după calea de reacție I, cicloaducții indolizininici (**12a-d**) obținuți având structura regioizomerică (**A**), după cum s-a putut determina prin analizele spectrale RMN 1D și 2D heteronucleare.

Astfel, au fost sintetizați pe această cale următorii produși:

- iodura de N-metil-4(1-etoxicarbonil-3-metoxicarbonil-indolizin-7-il)-piridiniu (**12a**);
- iodura de N-metil-4(1-etoxicarbonil-3-benzoil-indolizin-7-il)-piridiniu (**12b**);
- iodura de N-metil-4(1-etoxicarbonil-3-(*para*-metoxi-benzoil)-indolizin-7-il)-piridiniu (**12c**);
- iodura de N-metil-4(1-etoxicarbonil-3-(*para*-nitro-benzoil)-indolizin-7-il)-piridiniu (**12d**).

Cele mai bune rezultate s-au obținut la tratarea sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu cu un mic exces de propiolat de etil (40%), în prezența trietilaminei, folosind ca solvent N-metil-pirolidinona (NMP). Reacția a fost condusă la 50-60°C, timp de 6-9 ore, produșii doriți fiind obținuți în final, după purificare (vezi partea experimentală), cu un randament de 51-73%. Evoluția reacției a fost monitorizată prin cromatografie HPLC, punându-se în evidență formarea derivatului indolizinic cu spectru UV complex, total diferit de al sărurilor de plecare, ca unic produs de reacție.

În conformitate cu datele prezentate în literatura de specialitate^(36, 103, 164, 149), putem presupune că reacția de cicloadiție cu propiolat de etil decurge, cu formarea inițială, „in situ”, a ilidelor (**10a-d**) prin dehidrohalogenarea în prezența TEA a sărurilor de plecare (**9a-d**), procesul continuând apoi cu formarea unui intermediar hidrogenat neizolabil (**11a-d**), care suferă o aromatizare probabil prin dehidrogenare oxidativă, în condițiile mediului ambient.

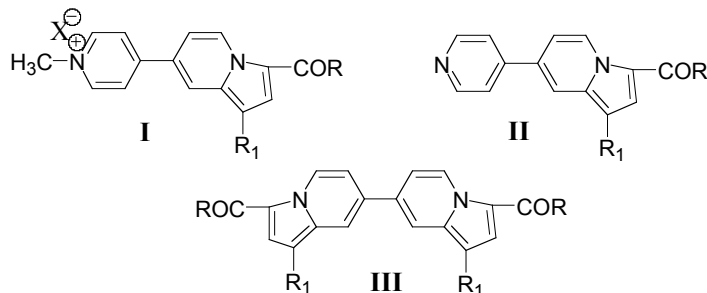
Cicloaducții sintetizați se prezintă ca substanțe solide, cristaline, de culoare galbenă, stabile, cu puncte de topire ridicate (215-240°C).

De menționat este faptul că acești produși prezintă proprietăți optice interesante, ce au constituit subiectul unui studiu ulterior, detaliat și aprofundat. De asemenea, piridiniu-indolizinele sintetizate prezintă interes și datorită solubilității lor ridicate, în solvenți polari și în special în apă, comparativ cu alte mono- și bis-indolizine anterior sintetizate de alți autori^(104, 109) (Tabelul III.2.1). Această proprietate a făcut posibilă studiarea interacțiunii piridiniu-indolizinelor cu ADN-ul, sub aspectul fluorescenței produșilor.

Tabelul III.2.1. Solubilitatea comparativă a piridiniu-indolizinelor (I), monoindolizinelor(II) și bis-indolizinelor (III), în diverși solvenți

Produsul	Solvenți										
	H ₂ O	MeOH	EtOH	Acetonă	DMF	CH ₃ CN	CHCl ₃	CH ₂ Cl ₂	Et ₂ O	AcOEt	Toluen
I	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-	-
II	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+
III	-	-	-	±	±	±	+	+	+	+	+

+ solubil, ± puțin solubil, -insolubil



Structura și gradul de puritate al compușilor indolizinici sintetizați au fost investigate prin analize spectrale (IR, RMN, SM) și elementale.

În particular, semnalele protonilor au fost atribuite pe baza experimentelor ¹H-RMN și 2D (¹H-¹H) COSY și NOESY, realizate în DMSO-d₆, la 300MHz.

Astfel, în spectrul ^1H -RMN, prezența grupei $\text{N}^+\text{-CH}_3$ este confirmată de apariția unui singlet fin, la 4.39-4.40 ppm. Deplasarea spre câmpuri mai mici a semnalului protonilor grupei $\text{N}^+\text{-CH}_3$ se datorează efectului inductiv azotului cuaternar asupra CH_3 . În cazul compușilor (**12b-d**), acești singleți se suprapun cu despicarea de la câmpuri mai slabe a cuarteților furnizați de grupele CH_2 esterice.

Protonii grupelor metilen esterice apar sub formă de cuarteți la $\delta=4.35\text{--}4.36$ ppm ($J=6.9\text{--}7.2$ Hz) datorită cuplării cu protonii grupelor CH_3 , care frunizează tripleți în regiunea de câmp înalt, la 1.35-1.37 ppm ($J=6.9\text{--}7.2$ Hz).

În cazul cicloaducților (**12a**, **12c**) protonii gupeilor metoxi, apar ca singleți la δ 3.89-3.90 ppm, indiferent dacă gruparea aparține unui rest esterice sau este substituent pe inelul benzoilic.

În regiunea aromatică a spectrului ^1H -RMN se găsesc semnalele protonilor inelelor heterociclice (figura III.2.1), după cum sunt prezentate în tabelul III.2.2.

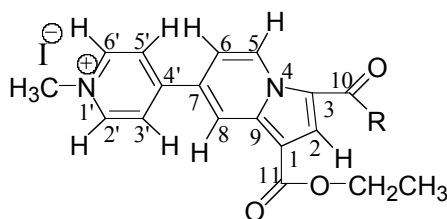


Figura III.2.1. Numerotarea inelelor heterociclice ale compușilor (**12a-d**)

Astfel, protonii H-5 apar la cele mai mici câmpuri, la δ 9.49-9.99 ppm, ca dubleți de dubleți ($J\sim 7.5\text{ Hz}$ și 0.8 Hz) în cazul compușilor (**12a**, **12b**, **12d**) și respectiv ca un dublet ($J=7.45$ Hz) pentru produsul (**12c**). Acest fenomen se datorează cuplării puternice cu protonii H-6 și unui posibil efect de cuplare mai slab cu H-8. Aceste date au fost confirmate și de experimentele 2D COSY și NOESY. Dezecranarea protonilor din pozițiile 5 se datorează vecinătății cu atomul de azot.

Protonii din pozițiile 6, ai compușilor (**12a-d**), apar ca dubleți de dubleți la $\delta=7.82\text{--}7.96$ ppm ($J\sim 7.5$ Hz și 2.1 Hz) datorită cuplării cu protonii H-5 și H-8. La $\delta=7.73\text{--}7.85$ ppm, apar singleți aparținând protonilor H-2 din compușii (**12a-d**). Uneori semnalele acestor protoni intră în componența unor multipleți cu protonii aromatici ai inelelor benzoilice.

Un dublet foarte fin ($J=1.23\text{--}1.25$ Hz) sau uneori un dublet de dubleți foarte fin ($J=2.10\text{--}2.15$ Hz și $0.79\text{--}0.84$ Hz) se poate observa pentru protonii H-8 din compușii (**12a-d**), datorită cuplajelor la lungă distanță cu protonii H-6 și H-5. Un caz

deosebit apare la compusul (**12a**), în cazul căruia pentru protonul H-8 în locul unui dublet de dubleți care ar fi trebuit să rezulte în urma cuplajelor acestuia cu H-6 și H-5, semnalul are forma unui multiplu foarte puțin expandat. Considerăm că, această structură a semnalului este cauzată de apropierea până aproape de suprapunere a celor patru despicături ale dubletului de dubleți, datorită valorilor foarte mici ale constantelor de cuplaj, $J_{8,6}=2.14$ Hz și $J_{8,5}=0.8$ Hz și a unei interacțiuni între norii electronici ai oxigenului dublu legat al grupei carboxi și norul electronic al hidrogenului H-8. Tot în acest sens, poate apărea și o slabă interacție de natură electrostatică între protonul H-8 și gruparea C=O esterică.

Protonii inelului piridinic apar ca doi dubleți la 9.10-9.12 ppm ($J=6.85$ -6.96 Hz) și respectiv la 8.59-8.66 ppm ($J=6.87$ -6.98 Hz). Atribuirea completă a acestor semnale a fost făcută prin experimente NOESY, în care se pot observa efecte de interacție NOE ale protonilor H-2', H-6' cu protonii grupei N⁺-CH₃ și respectiv între protonii H-5' și H-6.

Tabelul III.2.2. Datele spectrale ¹H-RMN ale compușilor (**12a-d**)

Compusul	Datele spectrale ¹ H RMN (DMSO-d ₆), δ ppm, J (Hz)					
	H-2	H-5	H-6	H-8	H-2' H-6'	H-3' H-5'
12a	7.85 (s)	9.49 (dd, J=7.48, 0.79)	7.82 (dd, J=7.50, 2.14)	8.76-8.77 (m)	9.11 (d, J=6.93)	8.59 (d, J=6.95)
12b	7.73- 7.67 (m)	9.99 (dd, J= 7.47, 0.81)	7.91 (dd, J= 7.51, 2.17)	8.88 (dd, J= 2.15, 0.84)	9.11 (d, J=6. 94)	8.65 (d, J=6.96)
12c	7.73 (s)	9.83 (d, J= 7.45)	7.88-7.84 (m)	8.87 (d, J= 1.25)	9.10 (d, J=6.85)	8.64 (d, J=6.87)
12d	7.74 (s)	9.95 (dd, J= 7.45, 0.74)	7.96 (dd, J= 7.50, 2.14)	8.90 (dd, J= 2.10, 0.79)	9.12 (d, J=6.96)	8.66 (d, J=6.98)

În cazul compușilor în care radicalul R este aromatic, deplasările chimice ale protonilor din inelul fenilic apar în regiunea aromatică și sunt influențate de substituenții prezenți în inel. Astfel, se poate observa o dezecranare a protonilor în cazul substituenților atrăgători de electroni (NO₂) și respectiv o deplasare a semnalelor spre câmpuri mai intense în cazul substituenților respingători de electroni.

Spectrele ^{13}C -RMN au fost înregistrate folosind secvența de impuls C13 mult INADEQUAT, atribuirea completă a semnalelor atomilor de carbon realizându-se cu ajutorul experimentelor de corelare 2D heteronucleare (^1H - ^{13}C) HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) și la lungă distanță (^1H - ^{13}C) HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation).

În acest fel, utilizând directă conectivitate a atomilor de carbon cu protonii corespunzători, experimentele HMQC determină deplasările chimice ale atomilor de carbon primari, secundari și terțiari. Semnalele atomilor de carbon cuaternari au fost atribuite utilizând experimentele de corelare la mare distanță (HMBC) ce utilizează constantele de cuplare $^3J_{\text{H-C}}$. În tabelul III.2.3. este prezentată atribuirea completă a semnalelor ^{13}C , ale inelelor piridinice și indolizينية.

Tabelul III.2.3. Deplasările chimice în spectrul ^{13}C -RMN ale inelelor heterociclice din compușii (12a-d)

		12a	12b	12c	12d
Atomul	$\delta \text{ C-1}$	107.32	107.84	107.58	108.30
	$\delta \text{ C-2}$	123.68	127.86	127.03	128.46
	$\delta \text{ C-3}$	115.44	122.97	123.12	122.64
	$\delta \text{ C-5}$	127.99	129.17	129.01	129.34
	$\delta \text{ C-6}$	112.88	113.63	113.22	114.07
	$\delta \text{ C-7}$	130.37	132.20	131.69	132.80
	$\delta \text{ C-8}$	118.49	118.47	118.41	118.48
	$\delta \text{ C-9}$	136.87	137.83	137.49	138.24
	$\delta \text{ C-4'}$	151.26	151.27	151.25	151.16

	δ C- 2' δ C- 6'	145.81	145.91	145.87	145.96
	δ C- 3' δ C- 5'	124.18	124.46	124.33	124.56
	δ C- 10	160.20	184.91	183.59	183.15
	δ C- 11	162.52	162.64	162.69	162.52

În acest mod, au fost atribuite fără echivoc semnalele atomilor de carbon C-9 (corelare la mare distanță cu H-8, H-2 și H-5), C-7 (corelare 3J cu H-3', H-5' și H-5) și respectiv C-4' (corelare la mare distanță cu H-8, H-6 și H-2', H-6'), după cum se poate vedea din figura III.2.2. pentru compusul (**12a**).

De asemenea, datorită corelării la mare distanță cu H-2' și H-6', semnalul CH_3 observat la ~ 47 ppm a fost atribuit grupării N^+-CH_3 . În mod asemănător, semnalele din regiunea alifatică, de la 59.92-60.13 ppm au fost atribuite grupelor CH_2 esterice, iar cele din regiunea 14.15-14.69 ppm aparțin grupelor CH_3 din grupările esterice aflate în poziția 1 a nucleului indolizinic. Carbonii grupărilor metoxi (OCH_3), ale compușilor (**12a**, **12c**) apar în regiunea alifatică, la 51-55 ppm.

În spectrele ^{13}C -RMN ale compușilor (**12b-d**), atomii de carbon cuaternari din grupările carbonil de la C-10, apar la 183-184 ppm. Grupările carbonil esterice atașate la C-1 se pot observa la ~ 162 ppm, în timp ce gruparea carbonil esterică din poziția C-3 apare la ~ 160.20 ppm (**12a**) (vezi tabelul III.2.3).

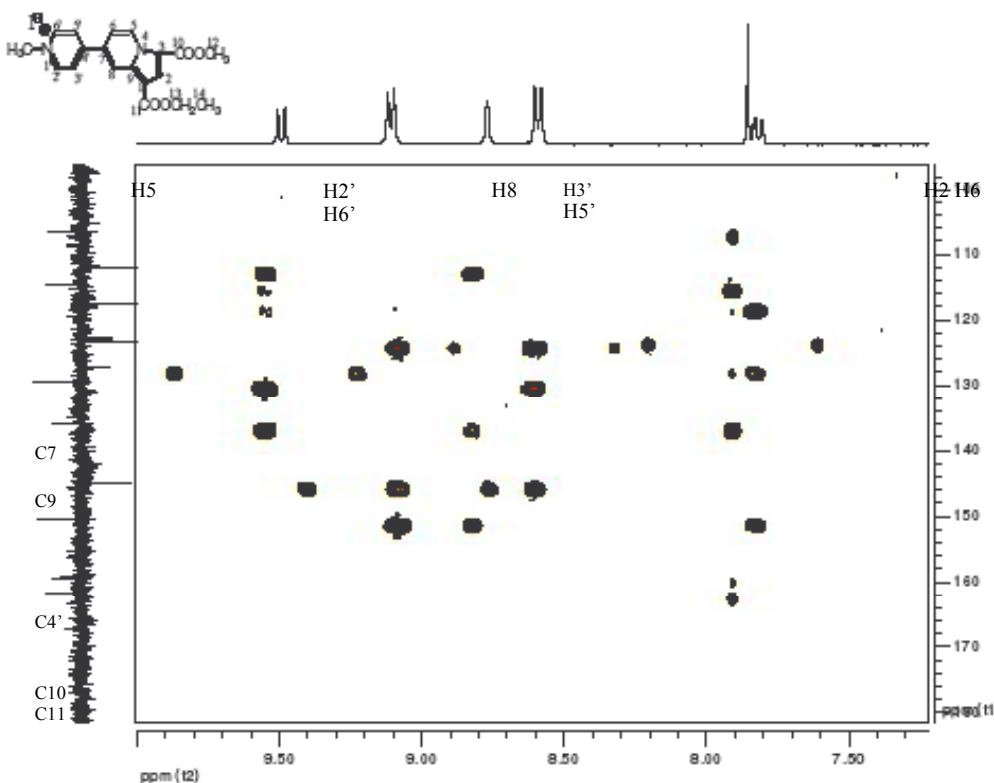
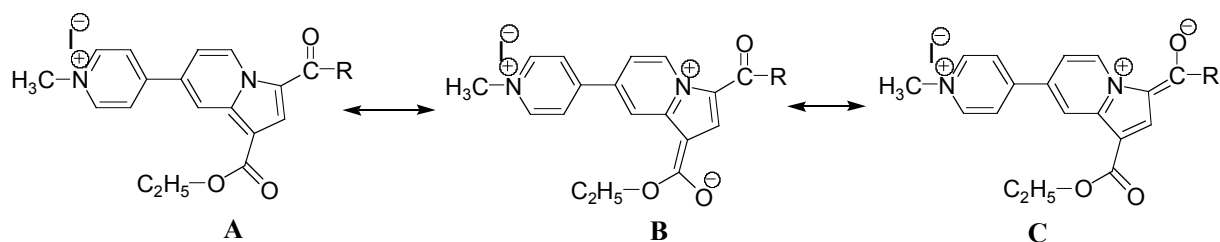


Figura III.2.2. Spectrul de corelare CH la lungă distanță, HMBC, pentru compusul **(12a)**

Experimentele heteronucleare RMN 2D (^1H - ^{13}C) HMBC, au fost utilizate de asemenea, pentru a confirma regioselectivitatea reacției de cicloadiție. Astfel, au fost identificate, pentru toți compușii **(12a-d)** sintetizați, două cuplaje $^3J_{\text{H-C}}$ între protonul H-2 și cei doi atomi de carbon carbonilic (C-10) și carboxilic (C-11), după cum se poate vedea din figura III.2.2. pentru compusul **(12a)**. Aceste rezultate dovedesc că atomul de carbon ilidic reacționează cu atomul de carbon nesubstituit al propiolatului de etil, compușii **(12a-d)** având structura regioizomerului **(A)**, ceea ce este în concordanță cu datele prezentate anterior în literatură⁽¹⁰³⁾.

Spectrele IR ale cicloaducțiilor indolizininice **(12a-d)**, înregistrate prin tehnica ATR, prezintă următoarele benzi caracteristice: în domeniul $1693\text{--}1701\text{ cm}^{-1}$ apar benzile caracteristice grupărilor C=O esterice iar la frecvențe cuprinse între $1640\text{--}1643\text{ cm}^{-1}$ absorb grupările C=O cetonice. Această descreștere semnificativă a ordinului legăturilor carbonilice se datorează conjugărilor p- π ale acestora cu dubbele legături din inelele indolizininice. Totodată, în acest caz sunt prezente și structurile viniloge: **B** carbat-vinilog și **C** amid-vinilog, caracterizate printr-o descreștere importantă a ordinului legăturii C=O.



De asemenea, în regiunea $1100\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$, apar benzi intense datorită legăturilor C-O-C din grupele esterice (**12a-d**) și respectiv metoxi (**12c**), precum și datorită vibrațiilor legăturilor C-N. Pentru compusul (**12d**), la 1509 cm^{-1} și 1346 cm^{-1} , apar benzi caracteristice vibrațiilor de valență simetrice și asimetrice ale grupării NO_2 .

Ca și în cazul sărurilor dicuaternare (**9a-d**), pentru analiza în spectrometrie de masă a compușilor (**12a-d**), tehnica cea mai potrivită este cea a electrospray-ului (ESI). În spectrele de masă înregistrate astfel, apare ca unic semnal, cu mase între 339-430, picul cationului M^+ , cu sarcina (+1), care reprezintă și picul de bază (100%). Au fost înregistrate totodată și spectrele de masă, în ionizare chimică (DCI), în care caz picul de bază este cel corespunzător fragmentării $[\text{M}^++1-\text{CH}_3]$ (100%), cu valori cuprinse între 325-416. Pentru compușii (**12a-b**) apar și semnalele corespunzătoare masei cationului $[\text{M}^++1]$ și respectiv $[\text{M}^++2]$. Ca și în cazul diiodurilor (**9a-b**), la înregistrarea spectrului de masă în modul negativ, prin tehnica DCI, obținem semnalul contraionului I^- (126.7-126.8).

III.2.2. Synthèse des cycloadduits indoliziniques de sels diquaternaires non symétriques du 4,4'-bipyridinium et propiolate de 4-nitro-phényl

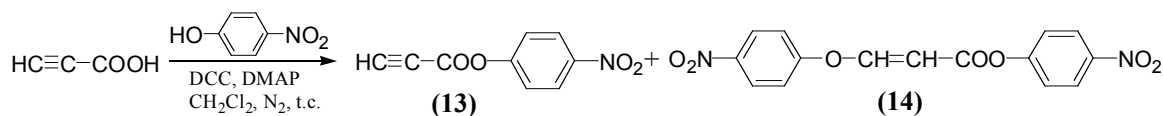
Considérant l'objectif d'obtenir des nouveaux fluorophores organiques, différemment fonctionnalisés, en vue de leur utilisation dans les analyse biologiques ou environnementales, on a étudié la synthèse des nouveaux structures cationiques fluorescentes de type pyridinium-indolizines substituées, qui présentent une fonction potentielle réactive, comme par exemple le groupement mobile 4-nitro-phenoxy-carbonyl. La présence d'une telle fonction sur le squelette fluorescent, offre la possibilité de lier l'unité fluorophorique sur des structures biomoléculaires (peptides, acides nucléiques, β -cyclodextrines, etc.) en vue de leur utilisation comme bio-marqueurs, conférant en même temps la modalité d'améliorer la solubilité des

produits fluorescents ou de moduler leurs propriétés fluorescentes, par fonctionnalisation ultérieures.

Luând în considerare datele bibliografice^(37, 110, 151), am ales ca metodă de sinteză pentru produșii piridiniu-indolizinicilor doriți, reacția de cicloadiție a 4,4'-bipiridiniu-ilidelor (**10a-d**), derivate în mediu bazic din sărurile cuaternare nesimetrice corespunzătoare, cu propiolatul de 4-(nitro)-fenil.

În scopul acestei sinteze, a fost obținut în prealabil esterul propiolic mai sus menționat. Sinteza a fost realizată, conform metodelor din literatură⁽¹⁹⁶⁾, prin reacția de esterificare a acidului propiolic cu *para*-nitro-fenolul, în prezența N,N-diciclohexilcarbodiimidei (DCC) și dimetilaminopiridinei (DMAP). Reacția a fost realizată în dicloretan, la temperatura camerei, în atmosferă inertă de azot.

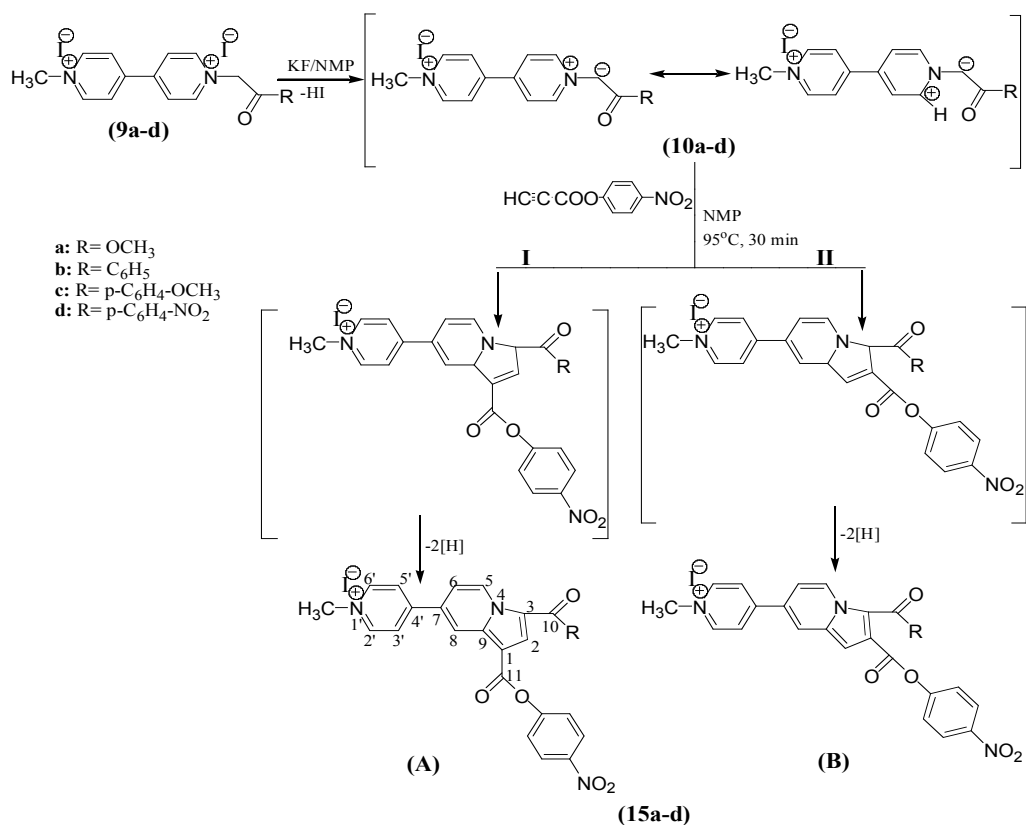
În aceste condiții, reacția de esterificare este însoțită de o adiție Michael de tip nucleofil, catalizată de baze (DMAP), a fenolului la tripla legătură a esterului propiolic, cu formarea unui ester fenilic al acidului fenoxiacrilic (**14**) alături de propiolatul de 4-nitro-fenil (**13**).



În vederea evitării formării produsului secundar (**14**) se lucrează cu un exces de acid propiolic (vezi partea experimentală). După îndepărtarea prin filtrare a N,N-diciclohexilureei, formată în cursul reacției, produșii doriți se separă, după evaporarea solventului, prin cromatografie pe coloană (silicagel, cloroform). Se poate obține astfel, propiolatul-de 4-nitro-fenil, cu un randament de 55%, sub formă de ace cristaline albe, cu punct de topire 135-137°C. Puritatea și structura compusului sintetizat au fost determinate prin analize spectrale (¹H-RMN și IR), rezultatele obținute fiind în concordanță cu datele din literatură (vezi partea experimentală).

În continuare, a fost realizat studiul experimental al reacției de cicloadiție a sărurilor dicuaternare nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu (**9a-d**) cu esterul propiolic (**13**) în condiții bazice, în solvenți organici.

Au fost sintetizați pe această cale 4 noi cicloaducți indolizinicici (**15a-d**) piridiniu substituiți, ce prezintă pe inelul indolizinic un rest de 4-nitrofenoxycarbonil, conform reacției:



Analiza produșilor obținuți arată că, și în acest caz, reacția de cicloadiție decurge regioselectiv, după calea **I**, formându-se regioizomerul **(A)**. Astfel, s-au sintetizat compușii:

- iodura de N-metil-4[1-(4-nitrofenoxicarbonil)-3-metoxicarbonil-indolizin-7-il]-piridiniu **(15a)**;
- iodura de N-metil-4[1-(4-nitrofenoxicarbonil)-3-benzoil-indolizin-7-il]-piridiniu **(15b)**;
- iodura de N-metil-4[1-(4-nitrofenoxicarbonil)-3-(para-metoxibenzoil)-indolizin-7-il]-piridiniu **(15c)**;
- iodura de N-metil-4[1-(4-nitrofenoxicarbonil)-3-(para-nitrobenzoil)-indolizin-7-il]-piridiniu **(15d)**.

Cele mai bune rezultate au fost obținute la tratarea sărurilor cuaternare de 4,4'-bipiridiniu cu propiolat de 4-nitro-fenil, în exces de 40%, în prezența fluorurii de potasiu (KF) în N-metil-pirolidinonă. Reacția s-a desfășurat sub agitare, la 95°C, timp de 30 minute. Utilizarea KF ca bază a permis micșorarea timpului de reacție la 30 minute, evitându-se astfel degradarea produșilor finali și ușurând totodată purificarea lor, prin eliminarea TEA și a iodhidratului acesteia, care pot conduce la eventuale reacții secundare (ex. polimerizarea dipolarofilului).

Reacția a fost monitorizată prin cromatografie HPLC, cu detecție în UV, punându-se în evidență o reacție de cicloadiție totală, fără produși secundari.

Ca și în cazul reacției cu propiolatul de etil, putem presupune că cicloadiția 1,3-dipolară cu propiolat de 4-nitro-fenil decurge, cu formarea inițială, „in situ”, a ilidelor (**10a-d**) prin dehidrohalogenarea în prezența KF a sărurilor de plecare (**9a-d**), procesul continuând apoi cu formarea unui intermediar hidrogenat neizolabil, care suferă o aromatizare datorită tendinței de stabilizare prin dehidrogenare oxidativă.

Cicloaducții indolizininici se obțin după purificare (vezi partea experimentală), cu randamente de 45-66%, sub formă de cristale galbene cu puncte de topire ridicate (190-199°C).

Structura și puritatea compușilor sintetizați au fost verificate prin analize elementale și spectrale: experimente RMN 1D și 2D homonucleare și heteronucleare, realizate în DMSO-d₆, IR (ATR) și SM (ESI).

Astfel, în spectrul ¹H-RMN, un singlet fin la 4.37-4.40 ppm, confirmă prezența în moleculă a grupării N⁺-CH₃, semnalul fiind deplasat spre câmpuri mai mici datorită dezecranării exercitate de atomul de azot cuaternar.

Protonii inelului *para*-nitro-fenoxi apar în regiunea aromatică sub forma a doi dubleți, la δ=7.61-7.67 ppm (J~ 9.01-9.16 Hz) și respectiv la 8.37-8.38 ppm (J~9.04-9.15 Hz), ultimii fiind mai dezecrași datorită vecinătății cu gruparea NO₂ grefată pe inelul aromatic. Uneori, (**15b**), aceste semnale apar ca multipleți împreună cu semnalele inelului benzoilic.

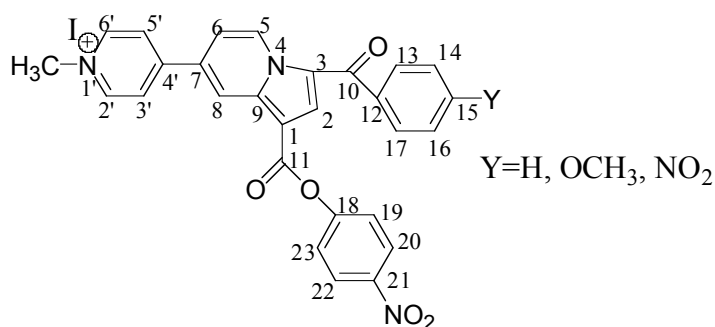
Pentru derivații (**15b-d**) care prezintă un substituent R aromatic, semnalele protonilor din inelul benzoilic apar în regiunea aromatică, sub forma unor dubleți, tripleți sau multipleți, datorită suprapunerii cu semnalele altor protoni aromatici și heteroaromatici. Deplasările protonilor benzoilici sunt influențate de natura substituenților grefați pe nucleu, în poziția *para* (vezi partea experimentală).

Pentru compușii (**15a**) și (**15c**), protonii grupelor OCH₃ apar sub forma unui singlet la 3.95 ppm și respectiv 3.89 ppm.

Semnalele care aparțin protonilor cei mai dezecrași, respectiv H-5 de pe nucleul indolizinic, apar sub forma unor dubleți la δ=9.65-10.01 ppm (J=7.46-7.65 Hz) datorită cuplării acestora cu protonii H-6. Protonii din pozițiile 8, apar în regiunea 8.85–8.92 ppm, ca un dublet fin (J=1.23-1.45 Hz), datorită cuplării *meta* cu protonii

H-6. În cazul compusului (**15c**), nu se observă această cuplare, protonul H-8 furnizând un singlet la $\delta=8.90$ ppm.

În cazul compusului (**15a**) la 8.20 ppm apare un singlet fin furnizat de protonul din poziția 2, iar la 7.92 ppm semnalul protonului H-6 sub forma unui dublet de dubleți ($J=7.56\text{Hz}$, 1.49 Hz) datorită cuplării menționate anterior cu protonii din pozițiile 5 și 8. Pentru ceilalți produși (**15b-d**) semnalele protonilor H-6 și H-2, apar în regiunea aromatică între 7.91-8.12 ppm, sub formă de multiplete, datorită suprapunerii reciproce sau cu protonii inelului benzoilic din pozițiile 13, 17.



Protonii inelului piridiniu, apar în regiunea aromatică, ca doi dubleți cuplați la 8.64-8.69 ppm ($J=6.46\text{-}6.81\text{ Hz}$ – protonii din pozițiile 3', 5') și respectiv la 9.08-9.12 ppm ($J=6.42\text{-}6.79\text{ Hz}$ – protonii H-2', H-6'), ultimii fiind mai dezecranați datorită vecinătății cu atomul de azot cuaternar.

Atribuirea completă a semnalelor din spectrul ^1H -RMN s-a realizat cu ajutorul experimentelor 2D (^1H - ^1H) COSY și NOESY, prin care sunt puse în evidență cuplajele menționate mai sus și precum și efectele NOE dintre protonii din structurile analizate.

Semnalele din spectrele ^{13}C -RMN au fost atribuite cu ajutorul experimentelor C13-mult și a spectrelor de corelare CH, directe (HMQC) și la mare distanță (HMBC).

Astfel, din spectrele C13-mult și de corelare directă HMQC a atomilor de C cu protonii corespunzători, au fost atribuite deplasările chimice ale atomilor de carbon protonați (CH) din inelele aromatice, heteroaromatice. De asemenea, pentru compușii (**15a**) și (**15c**), semnalele CH₃ de la 51-55 ppm, au fost atribuite în mod similar carbonilor grupărilor OCH₃. În același mod, utilizând și spectrele de corelare CH la mare distanță (HMBC), semnalele CH₃ observate la ~ 47 ppm au fost atribuite grupării N^+CH_3 , datorită cuplajului $^3J_{\text{CH}}$, cu protonii H-2' și H-6'.

În figura III.2.3. este prezentat spectrul 2D (^1H - ^{13}C) HMBC pentru compusul (15c).

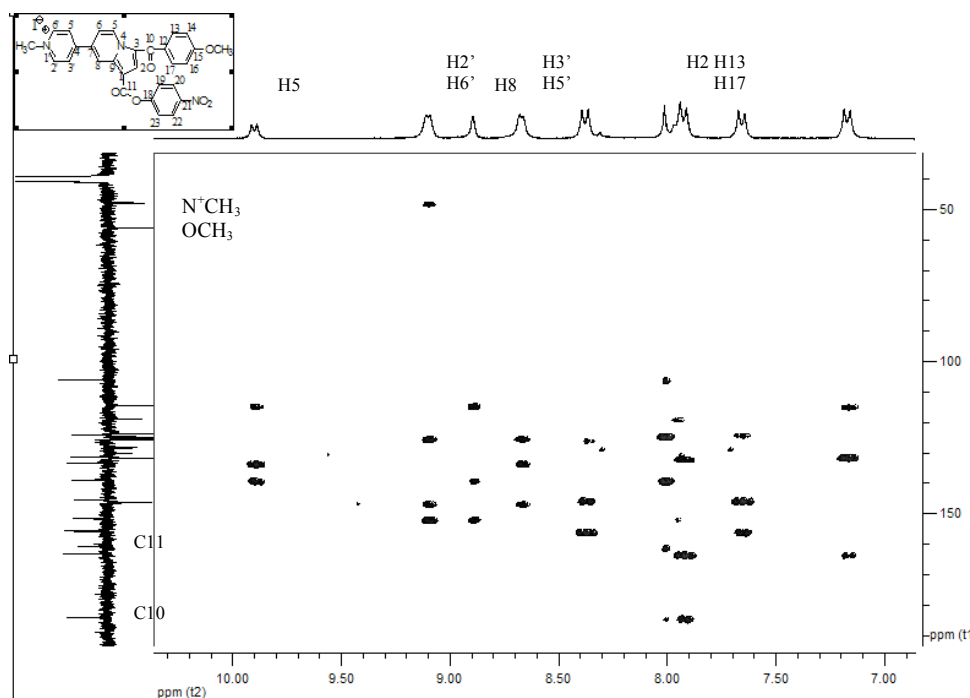


Figura III.2.3. Spectrul HMBC al compusului (15c)

Semnalele carbonilor C-10, ai grupărilor carbonilice din produșii (15b-d) apar la 183-184 ppm, și au fost atribuite prin corelarea la mare distanță cu protonii H-13, H-17. Semnalele carbonilor C-11, al grupărilor esterice din pozițiile 1, se situează la 155-160 ppm, în aceeași regiune găsindu-se și carbonul C-10 al grupei esterice, din compusul (15a).

Tot prin intermediul spectrelor de corelare la mare distanță (HMBC) au fost atribuite fără echivoc semnalele tuturor atomilor de carbon cuaternari, heterociclici sau fenilici (vezi partea experimentală).

Și pentru această serie de cicloaducți, cu propiolat de 4-nitro-fenil, experimentele 2D heteronucleare (HMBC) servesc la verificarea regiospecificității reacției de cicloaducție a 4,4'-bipiridiniu ilidelor cu alchinele nesimetrice. Astfel, prezența a două cuplaje $^3J_{\text{HC}}$ între protonul H-2 și atomii de carbon C-10 și C-11 ai grupărilor esterice și carbonilice (Figura III.2.3.), confirmă pentru compușii (15a-d) structura de regioizomer (A), reacția de cicloaducție desfășurându-se prin urmare după calea (I).

Spectrele IR, prezintă la frecvențe între 1717-1725 cm^{-1} , benzile caracteristice grupărilor C=O esterice, iar în domeniul 1633-1640 cm^{-1} benzile de absorbție ale grupelor C=O cetonice, datorită conjugărilor extinse ale acestor grupări cu dubbele

legături indolizininice. Grupările NO_2 furnizează două benzi intense, corespunzătoare vibrațiilor simetrică și asimetrică, la $1517\text{-}1519\text{ cm}^{-1}$ și respectiv $1341\text{-}1346\text{ cm}^{-1}$. Se pot observa totodată și benzile de vibrație simetrice și asimetrice ale legăturilor C-O-C, ale grupărilor esterice și metoxi, în regiunile $1189\text{-}1232\text{ cm}^{-1}$ și $1068\text{-}1160\text{ cm}^{-1}$. Celelalte benzi de absorbție apar la frecvențe și cu intensități în concordanță cu structurile propuse.

Spectrele de masă, înregistrate prin tehnica electrospray-ului (ESI) prezintă ca picuri de bază, semnalul corespunzător cationilor $[\text{M}^+]$ cu mase cuprinse între 432-523.

III.2.3. Synthèse des cycloadduits indolizininiques par réactions de cycloaddition en

phase solide, sous irradiation avec micro-ondes

Ultimul deceniu a adus în atenția cercetătorilor, noi obiective, ce urmăresc modernizarea metodelor și procedeele aplicate în chimie, în particular în sinteza organică, în scopul de a le face mai economice, mai simple, mai sigure și mai puțin poluante. Astfel, a luat naștere „chimia verde”, care implică înlocuirea reactivilor poluanți și (sau) toxici, dezvoltarea de noi procedee (reacțiile fără solvent, chimia în apă, bioconversii, electrochimie, fotochimie, etc.) precum și utilizarea activării reacțiilor chimice prin metode fizice (microunde, ultrasunete, presiuni înalte).

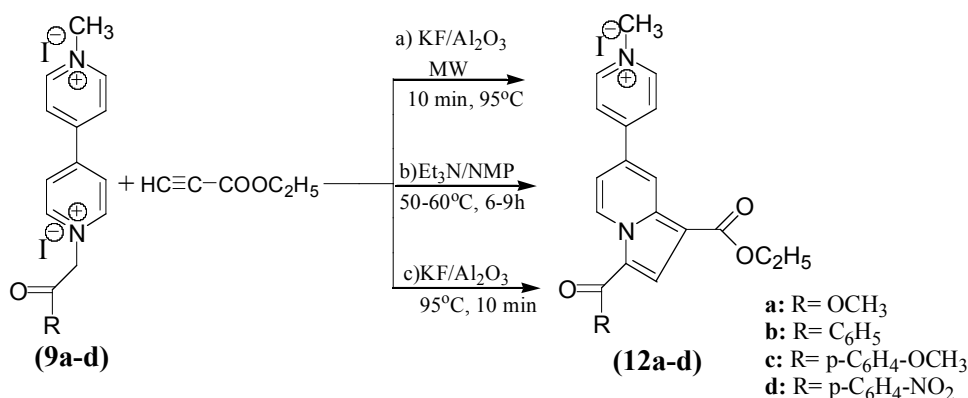
Numeroase publicații și recenzii recente⁽¹⁹⁷⁻²⁰¹⁾ prezintă avantajele folosirii activării cu microunde în reacțiile organice, în special când acestea sunt realizate în condițiile reacțiilor fără solvent (utilizarea reactivilor impregnați pe suporturi solide sau a reactivilor puri în sisteme lichid-lichid sau lichid-solid). Astfel, combinarea reacțiilor în fază solidă cu iradierea cu microunde conduce la reducerea considerabilă a timpului de reacție, îmbunătățirea semnificativă a randamentelor, creșterea purității produșilor de reacție și uneori la o creștere a selectivității reacțiilor.

Activarea cu microunde provoacă asupra amestecurilor de reacție efecte pur termice sau efecte specifice, în funcție de natura mediului de reacție sau de mecanismul de reacție. Prin urmare determinarea naturii efectului microundelor, prin comparații stricte între desfășurarea reacțiilor în condiții clasice și în condițiile iradierii cu microunde, poate oferi informații utile asupra mecanismului de reacție, în

particular în cazul reacțiilor de cicloadiție asupra sincronicității stării de tranziție^(200, 202).

Regardant les données trouvés dans la littérature concernant l'activation sous micro-ondes des réactions en phase solide⁽²⁰³⁻²⁰⁴⁾, en particulier des réactions de cycloaddition^(194-195, 200, 205), ainsi que des recherches effectuées dans le domaine de la synthèse des indolizines en phase solide, sous irradiation avec micro-ondes, par notre collectif^(35, 181) ou par autres chercheurs⁽¹⁸²⁾, on a abordé l'étude de la synthèse des fluorophores indoliziniques par la réaction de cycloaddition [3+2]-dipolaire de 4,4'-bipyridinium-ylures aux alcynes activés non-symétriques (propiolate d'éthyl), en phase solide, sous irradiation avec micro-ondes.

A la suite il est présenté l'étude comparatif réalisé sur la synthèse des cycloadduits indoliziniques (**12 a-d**) par la réaction de cycloaddition des sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium (**9a-d**) avec l'ester propiolique, en phase solide, sous l'irradiation avec micro-ondes, face aux même réactions effectués en conditions classiques (solvant organique et chauffage traditionnel) décrites dans souschapitre III.2.1. Aussi, en vue de l'établir l'effet des micro-ondes sur ces réactions, on a effectué la comparaison avec les réactions de cycloaddition réalisés en phase solide, sous chauffage traditionnel.



Astfel, conform metodelor prezentate în literatură^(35, 181), sărurile dicuaternare (**9a-d**) și dipolarofilul (PE), în exces (40%), s-au impregnat simultan pe suportul mineral solid KF-Al₂O₃ (4g KF-Al₂O₃/1g **9a-d**). Amestecul solid rezultat a fost supus ulterior unei iradierii cu microunde, într-un reactor multimod (700W), la presiunea atmosferică, timp de 10 minute, sau încălzirii pe baie de ulei, la 95°C, sub agitare energetică, timp de 10 minute.

Reacțiile decurg, cu formarea *in situ* a 4,4'-bipiridiniu-ilidelor, necesare pentru reacția de cicloadiție, realizându-se sub acțiunea bazică a fluorurii de potasiu.

Ca și în cazul reacțiilor efectuate în solvent, cicloadiția 1,3-dipolară decurge regioselectiv, atomul ilidic reacționând cu atomul de carbon nesubstituit al triplei legături din propiolați, rezultând cicloaducții indolizini (12a-d).

Randamentele obținute prin cele două procedeele utilizate, sunt prezentate în tabelul III.2.4. Valorile obținute au fost comparate cu cele obținute anterior la sinteza produșilor menționați, în condiții clasice utilizând ca solvent N-metil-pirolidinona.

Tabelul III.2.4. Comparația randamentelor și condițiilor de reacție pentru sinteza compușilor (12a-d)

Compusul	Soluție			Fază Solidă			Iradierie cu microunde		
	Timp (min)	T (°C)	Randament (%)	Timp (min)	T (°C)	Randament (%)	Timp (min)	T (°C)	Randament (%)
12a	480	50	63	10	95	57	10	95	84
12b	480	50	61	10	95	50	10	95	77
12c	360	55	71	10	95	52	10	95	85
12d	540	60	53	10	95	47	10	95	71

Analizele spectrale și elementale arată că produșii obținuți în fază solidă sunt identici cu cei obținuți în soluție, în condiții clasice (vezi cap. III.2.1.)

Analiza rezultatelor obținute arată că:

- reacția efectuată în fază solidă, pe suport mineral de $\text{KF}/\text{Al}_2\text{O}_3$, sub microunde decurge cu randamente mult mai mari, față de cea sub încălzire clasică, în soluție sau în fază solidă;
- puritatea amestecului de reacție este net superioară, față de cel obținut în soluție, purificarea produșilor finali fiind mult simplificată;
- utilizarea iradierii cu microunde duce la micșorarea semnificativă a timpului de reacție, conducând la evitarea unor eventuale reacții secundare;
- iradierea cu microunde poate avea un efect specific, nu doar pur termic, asupra sintezei indolizinelor substituite.

Rezultatele obținute experimental în cazul sintezei în fază solidă, sub microunde se pot datora următoarelor considerente:

- 1) suportul mineral solid utilizat favorizează desfășurarea reacțiilor de cicloadiție studiate:
 - KF este o bază foarte puternică ce determină obținerea *in situ* mult mai rapidă a 4,4'-bipiridiniu-ilidelor, eliminând totodată dezavantajele utilizării TEA;

- alumina (Al_2O_3) este un agent complexant de tip acid Lewis ce acționează asupra grupării $\text{C}=\text{O}$ esterice a dipolarofilului, ducând la o polarizare accentuată a legăturii triple;

- datorită planeității reactanților pot apărea interacții specifice mari între aceștia și suprafața aluminei;

- utilizarea suportului solid permite în general ridicarea temperaturii de reacție peste cea limitată de punctul de fierbere al N-metil-pirolidinonei;

2) iradierea cu microunde mărește randamentele de reacție și micșorează durata acesteia datorită unor efecte energetice complexe manifestate prin:

- încălzirea uniformă în macro și în micro a amestecului de reacție;
- o creștere rapidă a temperaturii, ce duce la evitarea reacțiilor secundare datorate încălzirilor prelungite;
- modificarea mărimilor termodinamice de activare (entalpie, entropie).

Totodată, manifestarea unui efect specific al microundelor, în cazul acestei reacții de cicloadiție poate sugera că reacția decurge printr-o stare de tranziție asincron^(197, 199).

L'analyse des résultats théoriques et expérimentaux présentés dans les souschapitres antérieures (III.2.1-III.2.3), obtenus à la suite de l'étude de la synthèse des cycloadduits indolisiniques par la réaction des sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium avec les alcynes activés non-symétriques, conduit aux conclusions suivantes:

- les réactions des sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium avec les alcynes activés substitués asymétriques, conduisent à l'obtention des nouveaux cycloadduits stables avec structure cationique de pyridinium-indolizine;

- la présence du substituant cationique de N-méthyl-pyridinium, n'empêche pas la formation des ylures carbanion mono-substitués et ni leur réactivité;

- les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire de 4,4'-bipyridinium-ylures avec les esters propioliques sont des réactions régiospécifiques, l'atome de charbon ylurique rattachant de l'atome de charbon le plus électrophile de l'alcyne asymétrique, à la fin de ces réactions étant isolé un seul isomère qui a été identifié par les analyses spectrales (RMN);

- ils ont été synthétisés sur cette voie deux nouvelles séries de cycloadduits indoliziniques, avec un reste cationique de sel de N-méthyl-pyridinium dans la position 7 et différents substituants dans les position 1 et 3 du noyau indolizine;
- la présence du reste sel de pyridinium; conduise à l'augmentation de la solubilité des produits indoliziniques, dans les solvants polaires et en particulier dans l'eau, ce qui a permis de tester pour la première fois les propriétés des ces composés dans des systèmes biologiques;
- l'introduction dans la molécule du groupement *para*-nitro-phenoxy-carbonyl a permis l'étude ultérieure de la possibilité de fonctionnalisation des cycloadduits indoliziniques en vue de leur greffage sur des bio-molécules;
- les composés synthétisés présentent des intéressantes propriétés optiques, en particulier des propriétés fluorescentes, qui ont fait l'objet d'une étude détaillée, qui va être présentée dans un des chapitres suivantes;
- en vue d'aligner les méthodes de synthèse des cycloadduits pyridinium-indolizines aux tendances et principes actuels de la „chimie verte”, on a étudié la réalisation de la réaction de cycloaddition, en phase solide, sous irradiation avec micro-ondes, les résultats étant prometteurs: rendements élevés, temps de réaction réduits et purification simplifiée.

III.2.4 Fonctionnalisation des cycloadduits indoliziniques

Tenant compte que notre recherche suivra l'utilisation des produits indoliziniques comme marqueurs fluorescents dans des systèmes biologiques, partant des iodures de N-méthyl-4[1-(4-nitrophenoxy-carbonyl)- indolizin-7-yl]-pyridinium (**15a-d**), nous nous sommes orientés vers la transformation du groupement ester 4-nitro-phenoxy-carbonyl, dans groupement amide, par la réaction des dérivés (**15a-d**) avec amines aliphatiques primaires, comme par exemple le 3-(N,N-diméthylamino)-1-propylamine.

Conform indicațiilor din literatură^(151, 206), am ales ca solvent dimetilformamida, reacția fiind condusă la încălzire moderată (50-60°C), sub agitare energetică, timp de 2 ore. Pentru obținerea unei transformări complete a compușilor esterici, s-a lucrat în prezența unui mare exces de diamină (r.m. amină:derivat indolizinic = 4:1). În aceste condiții are loc reacția următoare:

aminic conduce la creșterea solubilității acestor derivați indoliziniici, în solvenți polari și în special în apă.

Structura compușilor sintetizați a fost caracterizată prin analize spectrale RMN (^1H și ^{13}C), IR și spectrometrie de masă (mod ESI).

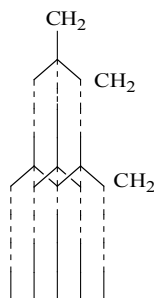
Întrucât la înregistrarea spectrelor ^1H -RMN în dimetilsulfoxid deuterat (DMSO-d_6), unul din semnalele CH_2 ale catenei alifatice se suprapune cu picul apei reziduale (vezi compusul **16d** – partea experimentală), s-a recurs la înregistrarea spectrelor în apă deuterată (D_2O).

Lucrând în D_2O , semnalul grupei NH amidice este schimbat și nu se poate detecta. Semnalele protonilor catenei amidice apar în regiunea alifatică după cu urmează:

- la 3.26-3.36 ppm apar protonii grupelor metilenice vecine azotului amidic (NH-CH_2 -) sub forma unor tripleți ($J=5.14\text{-}7.05$ ppm) datorită cuplajului cu protonii grupelor metilenice vecine;

- în regiunea 2.43-3.29 ppm, pentru compușii (**16a-c**), apar semnalele protonilor grupărilor metilen vecine azotului aminic ($-\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$), sub forma unor tripleți, datorită cuplării cu protonii grupelor vecine ($J = 7.2$ Hz). În cazul compusului (**16d**) al cărui spectru ^1H -RMN a fost înregistrat în DMSO-d_6 , semnalul acestor protoni apare ca un triplet la 2.26 ppm ($J = 6.76$ Hz);

- protonii grupelor metilen din poziția 2 a catenei propilice ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2-$) apar la cele mai mari câmpuri, în regiunea 1.63-2.19 ppm, sub forma unor multipleți, datorită cuplării cu protonii celor două grupe metilenice vecine. Multipleții respectivi au un aspect de quasicvintet, datorită valorilor foarte apropiate ale constantelor cuplajelor grupărilor metilenice din catena propilică, conform schemei următoare:



- cele două grupe metil aminice ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$), furnizează singleți la 2.13-2.96 ppm, corespunzători pentru 6 protoni.

Protonii grupei N^+CH_3 , care sunt mai dezecranați datorită atomului de azot cuaternar, furnizează singleți, la 4.37-4.43 ppm.

Ceilalți protoni ai inelelor heterociclice dau semnale similare cu cele ale protonilor corespunzători ai derivaților **(12a-d)** și **(15a-d)**, deplasările fiind dependente și de natura solventului deuterat folosit, după cum se poate vedea din tabelul III.2.6.

Semnalele protonilor care aparțin substituenților R, apar în concordanță cu structurile propuse.

Atribuirea semnalelor din spectrul ^1H -RMN s-a realizat și cu ajutorul experimentelor 2D (^1H - ^1H) COSY, care pun în vedere cuplajele existente între protonii vecini.

Tabelul III.2.6. Datele spectrale ^1H -RMN ale compușilor **(16a-d)**

Compusul /solvent folosit	Datele spectrale ^1H RMN (DMSO- d_6), δ ppm, J (Hz)					
	H-2	H-5	H-6	H-8	H-2' H-6'	H-3' H-5'
16a D ₂ O	7.53 (s)	8.78 (d, J=7.70)	7.09 (dd, J=7.75, 1.37)	8.30 (s)	8.69 (d, J=6.16)	8.12 (d, J=6.15)
16b D ₂ O	7.47-7.56 (m)	9.27 (d, J= 7.38)	7.24 (dd, J= 7.32, 1.53)	8.46 (d, J= 0.81)	8.72 (d, J=6.72)	8.08 (d, J=6.70)
16c D ₂ O	7.54-7.56 (m)	9.34 (d, J= 6.18)	7.32 (d, J=6.16)	8.55 (s)	8.80 (d, J=7.07)	8.23 (d, J=7.05)
16d DMSO- d_6	8.06-8.09 (m)	9.93 (d, J= 7.35)	7.87-7.90 (m)	9.22 (s)	9.08 (d, J=6.08)	8.62 (d, J=6.09)

Pentru compușii **(16a)** și **(16c)** au fost înregistrate și spectrele ^{13}C -RMN folosind secvența ^{13}C mult INADEQUAT, folosind ca solvent D₂O. Spectrele înregistrate prezintă următoarele caracteristici:

- atomii legăturilor C=O amidice apar la 162.14 ppm (**16a**) și respectiv 175.91 ppm (**16c**);
- carbonul legăturii cetonice din compusul **(16c)** apare la 184.65 ppm, în timp ce carbonul legăturii C=O esterice a compusului **(16a)** apare la 165.65 ppm;
- grupele N^+CH_3 dau semnale la 47.9 ppm iar grupele metil aminice ($\text{N}(\text{CH}_3)_2$) apar la 43.3 ppm, sub forma unui singur semnal CH_3 ;
- grupele metilen din catena alifatică amidică, apar la aproximativ 56 ppm ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 32-37 ppm ($\text{NH}-\text{CH}_2-$) și respectiv 25-26 ppm ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$);

- carbonii grupelor metoxi, dau un semnal CH_3 , la 52-56 ppm, în funcție de apartenența acestora;

- ceilalți atomi de carbon ai inelelor heterociclice dau semnale în zona aromatică (110-160 ppm) corespunzătoare naturii lor, cuaternare sau terțiare (CH), în concordanță cu structurile propuse;

Spectrele IR înregistrate prin tehnica ATR, pun în evidență natura amidică a compușilor sintetizați, prin prezența la $3249\text{-}3279\text{ cm}^{-1}$ a benzii caracteristice vibrației legăturii N-H, iar la 1642 cm^{-1} a benzii caracteristice legăturii C=O amidice. Între $2800\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$, apar benzile caracteristice vibrațiilor legăturilor C-H alifatică din catena amidică. Celelalte semnale înregistrate, confirmă prezența în structura compușilor studiați a legăturilor C=O esterice (1682 cm^{-1}) și cetonice ($1611\text{-}1615\text{ cm}^{-1}$). Valorile mici ale numerelor de undă corespunzătoare grupărilor cetonice se datorează deplasărilor electronice provocate de efectele electronice (inductive și electromere) ale inelului fenilic și respectiv a substituenților (OCH_3 și NO_2) prezenți în poziția *para*. Se remarcă de asemenea benzile caracteristice legăturilor C-O-C ($1050\text{-}1290\text{ cm}^{-1}$), C-N, C=N sau a grupei NO_2 ($1518, 1340\text{ cm}^{-1}$).

În cazul compușilor (**16a**) și (**16c**) au fost înregistrate și spectrele de masă, prin tehnica ESI, fiind identificat ca pic de bază, cu sarcina (+1), picul molecular al cationului M^+ , cu mase de 395 (**16a**) și respectiv 471 (**16c**), ceea ce confirmă obținerea produșilor urmăriți.

Prin urmare, putem concluziona că am realizat o nouă funcționalizare a unui sistem indolizinic, cu efecte pozitive asupra creșterii solubilității acestuia și cu menținerea proprietăților fluorescente. Introducerea noii funcțiuni amidice, s-a înfăptuit prin înlocuirea grupării mobile 4-nitro-fenoxi cu un rest diamino alifatic. Această idee permite o largă extindere în viitor la încercarea de a lega sistemele indolizinice pe biomolecule (oligopeptide, proteine, etc.) în scopul utilizării acestora ca markeri fluorescenți.

Cercetările efectuate în continuare au avut ca obiect studiul unor proprietăți fizico-chimice și biochimice ale compușilor sintetizați, prezentați în subcapitolele III.1 și III.2, precum și investigarea unor posibile aplicații ale acestora.

IV. PROPRIÉTÉS ET APPLICATIONS

IV.1. COMPORTEMENT ACIDO-BASIQUE DES SELS DIQUATERNAIRES DE 4,4'-BIPYRIDINIUM

Comme on l'a montré dans les chapitres antérieurs, les sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium, constituent une classe de composés avec des propriétés et des applications intéressantes. Cette famille est connue sous le nom de „viologènes”, à cause de leur capacité à changer de couleur dans divers milieux de réaction.

Considérant les études antérieurement présentées dans la littérature^(60, 109), on a réalisé une étude expérimentale, par titration potentiométrique, concernant le caractère acide de 5 nouveaux sels diquaternaires symétriques et non-symétriques de 4,4'-bipyridinium ainsi que le caractère basique des ylures correspondants. L'étude a suivi la détermination des valeurs de pK_a des sels et respectivement de pK_b des bases conjuguées des sels diquaternaires, par la méthode de pH d'équivalence. Les résultats obtenus ont permis la détermination de certaines corrélations entre ces valeurs, l'acidité et la structure des sels respectifs.

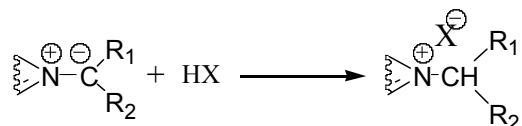
Cette étude nous conduit aux conclusions suivantes:

- Les sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium, présentent un comportement d'acides faibles ($K_a \cdot 10^{-9}$ - 10^{-5}) dans la réaction avec les bases anorganiques;
- Les 4,4'-bipyridinium-ylures, les bases conjuguées des sels quaternaires ont un caractère basique et nucléophile, pouvant réagir avec les acides minéraux;
- Plus la valeur de pK_a des sels est faible, plus la basicité des ylures est petite et l'ylure présente un degré de stabilité plus élevé;
- L'acidité des sels et respectivement la basicité des ylures sont dépendantes de la nature des substituants liés au carbanion ylurique;
- La variation de la couleur des sels en fonction du pH du milieu rend possible leur utilisation comme indicateurs acido-basiques dans les réactions de neutralisation.

Una din proprietățile acestei clase de compuși, cu numeroase aplicații o constituie dehidrohalogenarea în mediu bazic, ce conduce la formarea 4,4'-

bipiridiniu-ilidelor, care datorită structurii speciale de „zwitterioni” prezintă atât caracter nucleofil cât și caracter de 1,3-dipoli.

Datorită caracterului nucleofil, la tratare cu acizi minerali, carbanionul ilidic conduce din nou la obținerea sării inițiale⁽²⁰⁷⁾:

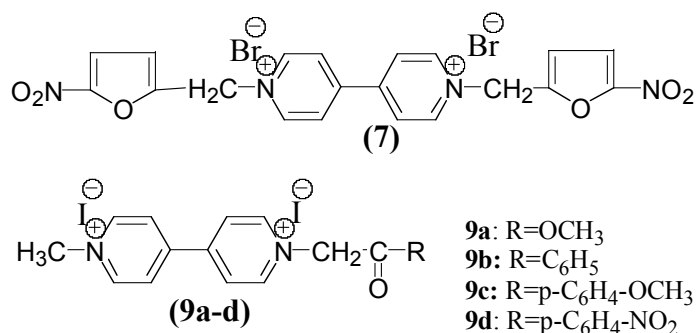


Studiul reacției sărurilor cuaternare de 4,4'-bipiridiniu cu bazele anorganice pune în evidență caracterul acid al acestora, în timp ce reacția cu acizii a 4,4'-bipiridiniu-ilidelor corespunzătoare, evidențiază caracterul bazic al acestora. Potrivit datelor din literatură^(208,209), forța nucleofilă a carbanionului ilidic este în strânsă legătură cu bazicitatea acestuia și poate fi apreciată prin determinarea valorilor de pK_a ale acizilor conjugați ai ilidelor (sărurile corespunzătoare). Astfel, cu cât valoarea pK_a -urilor este mai scăzută, cu atât bazicitatea ilidei este mai scăzută și stabilitatea ilidei este mai mare. Totodată, bazicitatea ilidelor este în strânsă legătură cu natura substituenților legați de carbanionul ilidic.

Având în vedere aceste considerente teoretice, precum și studiile efectuate anterior prezentate în literatură^(60, 109), am realizat un studiu experimental privind caracterul acid al unor noi săruri dicuaternare simetrice și nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu precum și caracterul bazic al ilidelor corespunzătoare. Studiul a constatat în determinarea valorilor de pK_a ale sărurilor și respectiv pK_b ale bazelor conjugate ale sărurilor dicuaternare. Rezultatele obținute au permis stabilirea unor corelații între aceste valori, aciditatea și structura sărurilor respective.

Studiul s-a realizat pe un set de 5 săruri dicuaternare simetrice și nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu a căror sinteză și caracterizare structurală a fost prezentată în subcapitolul III.1:

- * dibromura de N,N'-di(4'-nitrofuran)-4,4'-bipiridiniu (**7**);
- * diiodura de N-metil-N'-carbometoxi-metil-4,4'-bipiridiniu (**9a**);
- * diiodura de N-metil-N'-fenacil-4,4'-bipiridiniu (**9b**);
- * diiodura de N-metil-N'-(para-metoxi-fenacil)-4,4'-bipiridiniu (**9c**);
- * diiodura de N-metil-N'-(para-nitro-fenacil)-4,4'-bipiridiniu (**9d**).



Caracterizarea acido-bazică s-a realizat prin titrare potențimetrică, folosind un pH-metru cu electrod de sticlă, la 25°C. Au fost supuse titrării soluții apoase de săruri de concentrație 10⁻² M, folosind o soluție apoasă de NaOH 10⁻² M.

Pentru determinarea valorilor pK_a s-a folosit metoda pH-ului de echivalență (neutralizare)⁽²¹⁰⁾. Potrivit acestei metode, la punctul de semiechivalență a fost neutralizată jumătate din cantitatea de acid, și valoarea pH-ului, care depinde de constanta de disociere, devine:

$$pH_{1/2} = pK_a \quad (1)$$

Valorile pH-ului de echivalență (pH_{1/2}) s-au determinat din curbele de titrare, specifice titrării unui acid slab cu o bază tare, prezentate în figurile IV.1.1 și IV.1.2.

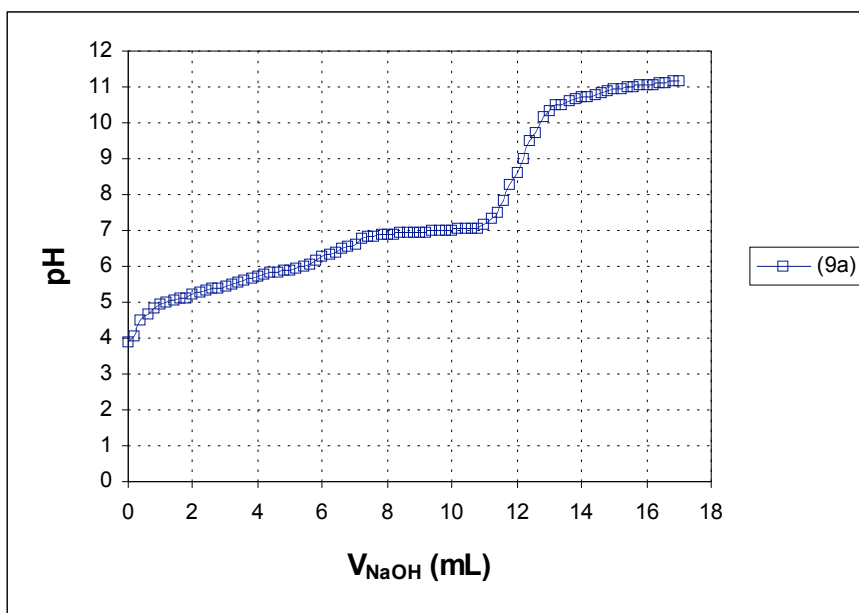


Figura IV.1.1. Curba de titrare a sării dicuaternare nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu **(9a)** cu NaOH, în mediu apos

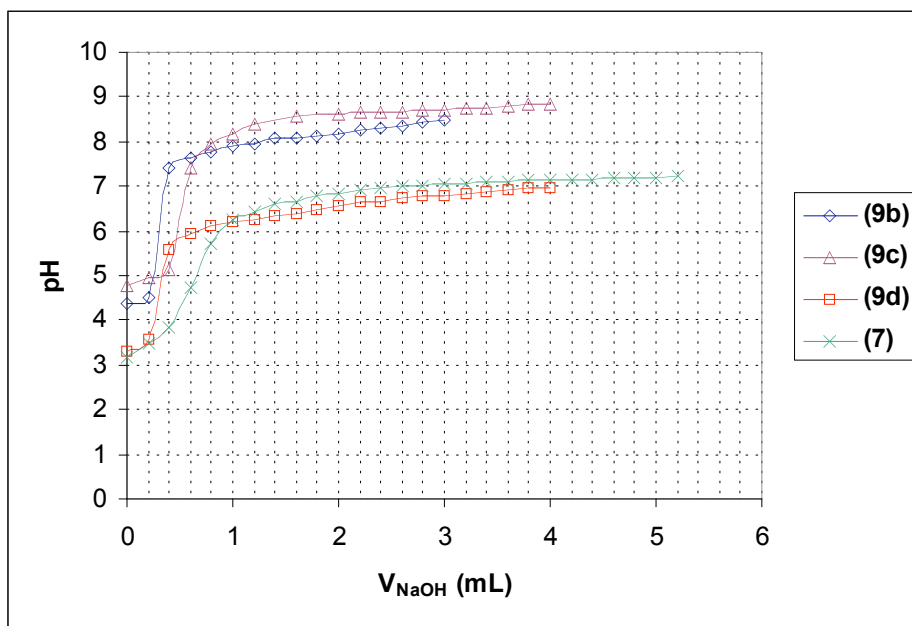


Figura IV.1.2. Curbele de titrare ale sărurilor dicuaternare simetrice (7) și nesimetrice (9b-d) cu NaOH, în mediu apos

Pentru calcularea valorilor pK_b s-au folosit relații similare cu cele de la titrarea unui acid slab ($K_a \leq 10^{-5}$) cu o bază puternică, în mediu apos:

$$pH_{1/2} = pK_{apa} - pK_b \quad (2)$$

Dacă în relația (2) se introduce relația (1), ea va deveni:

$$pK_a + pK_b = pK_{apa} \quad (3)$$

Cunoscând valoarea de autoprotoliză a apei la temperatura ambiantă, $K_{apa} = 10^{-14}$, relația (3) va deveni: $pK_a + pK_b = 14$.

Valorile constantelor de aciditate (K_a) și respectiv bazicitate (K_b) se vor determina folosind relațiile:

$$pK_a = -\lg K_a \quad (4) \quad \text{și} \quad pK_b = -\lg K_b \quad (5)$$

În tabelul IV.1.1 sunt prezentate valorile pK_a , pK_b și respectiv constantele de aciditate (K_a) ale sărurilor și de bazicitate (K_b) ale ilidelor corespunzătoare.

Tabelul IV.1.1. Constantele de acido-bazicitate ale sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu

Compus	pK _a	K _a	pK _b	K _b
(7)	4.95	$1.12 \cdot 10^{-5}$	9.05	$8.91 \cdot 10^{-10}$
(9a)	8.75	$1.77 \cdot 10^{-9}$	5.25	$5.62 \cdot 10^{-6}$
(9b)	6.05	$8.91 \cdot 10^{-7}$	7.95	$1.12 \cdot 10^{-8}$
(9c)	6.65	$2.23 \cdot 10^{-7}$	7.35	$4.46 \cdot 10^{-8}$
(9d)	4.65	$2.23 \cdot 10^{-5}$	9.35	$4.46 \cdot 10^{-10}$

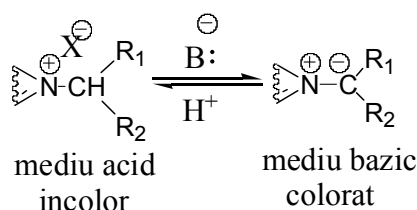
Analiza datelor prezentate în tabelul IV.1.1. ne arată că, variația acidității sărurilor și respectiv a bazicității ilidelor conjugate, sunt în strânsă legătură cu natura substituenților legați de carbanionul ilidic, care favorizează diferit delocalizarea sarcinii negative a acestuia și implicit stabilitatea ilidelor.

Astfel se constată, că sărurile **(9b-d)** și respectiv **(7)** prezintă valori ale pK_a mai mici decât pK_a-ul sării **(9a)**. Totodată, aceeași variație se constată și în cazul bazicității (K_b) ilidelor conjugate corespunzătoare. Această comportare se datorează susbtituenților fenilici și respectiv furanic, care exercită o acțiune de delocalizare mai puternică a sarcinii negative ilidice, prin favorizarea conjugării, față de substituentul COOCH₃.

Pe de altă parte, în seria **(9b-d)**, se constată că substituenții atrăgători de electroni (ex.: NO₂), prin efectul -I și -E, provoacă o scădere puternică a valorii pK_a a sărurilor și respectiv a bazicității ilidelor, datorită delocalizării puternice a sarcinii carbanionului ilidic. În schimb, substituenții respingători de electroni, de tipul OCH₃ (-I slab, +E puternic) determină o creștere a valorilor pK_a și respectiv K_b.

În concluzie, se observă că se poate face o corelare între forța nucleofilă a unei ilide și bazicitatea acesteia. Astfel, cu cât valoarea pK_a respectiv K_b este mai scăzută, cu atât caracterul nucleofil al carbanionului ilidic este mai mic, iar stabilitatea ilidei mai mare.

Totodată, cercetările experimentale au arătat că sărurile dicuaternare simetrice sau nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu, se pot folosi ca indicatori acido-bazici, datorită stabilității lor și proprietății de a-și schimba culoarea în funcție de pH-ul mediului, datorită reacției acido-bazice:



Prin urmare, culoarea în mediu acid va corespunde sărurilor dicuaternare, iar cea în mediu bazic se datorează ilidelor conjugate corespunzătoare

Pentru sărurile analizate de noi, s-au obținut următoarele variații de culoare, tabelul IV.1.2.

Tabelul IV.1.2. Variația culorii sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu, în funcție de pH.

Compus	Culoarea în mediu acid	Culoarea la punctul de echivalență	Culoarea în mediu bazic
(7)	Galben	Roz-violet	Violet
(9a)	Galben	Portocaliu	Roșu
(9b)	Galben	Roz	Roșu
(9c)	Galben	Roz-portocaliu	Roșu-portocaliu
(9d)	Galben	Portocaliu	Roșu

Studiul proprietăților acido-bazice ale sărurilor dicuaternare simetrice și nesimetrice, ne conduce la următoarele concluzii:

- Sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu, prezintă comportare de acizi slabi ($K_a \cdot 10^{-9} - 10^{-5}$) în reacție cu bazele anorganice;
- 4,4'-bipiridiniu-ilidele, bazele conjugate ale sărurilor respective au caracter bazic și nucleofil, putând reacționa cu acizii minerali;
- cu cât valoarea pK_a a sărurilor este mai scăzută cu atât bazicitatea ilidei este mai mică și ilida prezintă un grad de stabilitate mai mare;
- aciditatea sărurilor și respectiv bazicitatea ilidelor sunt dependente de natura substituenților legați de carbanionul ilidic;
- variația culorii sărurilor în funcție de pH-ul mediului face posibilă utilizarea acestora ca indicatori acido-bazici în reacțiile de neutralizare.

IV.2 L'ÉTUDE DE L'EFFET ANTIBACTÉRIEN DES NOUVEAUX COMPOSÉS DÉRIVÉS DE LA 4,4'-BIPYRIDINE

La croissance continue de la résistance des microorganismes aux traitements spécifiques a imposé la nécessité d'identifier en permanence les composés avec rôle antiseptique, conservant ou des pesticides, avec effet microbiostatique et microbicide, avec un spectre antibactérienne et antifongique.

Des études antérieures ont montré l'effet antimicrobienne des sels monoquaternaires ⁽²²¹⁾ et respectif diquaternaires de 4,4'-bipyridinium, symétriques⁽²²²⁾ et non-symétriques^(223, 224). Partant de ces résultats la présente étude a suivi d'établir l'effet antibactérienne et antifongique des nouveaux sels diquaternaires symétriques **(5)**, **(7)** et non-symétriques **(9a-d)** dérivés de la 4,4'-bipyridine, à lequel synthèse a été présentée dans le souschapitre III.1. On a essayé aussi d'établir certaines corrélations entre la structure et l'effet biologique des composés étudiés.

Considérant les indications bibliographiques concernant l'effet antimicrobienne quantitative et qualitative des dérivés de type indolizines^(225, 226), ainsi que l'activité antimicrobienne des sels du pyridinium, les recherches ont suivi aussi l'évaluation de la capacité inhibitrice des uns des nouveaux pyridinium-indolizines **(12)**, en particulier du dérivé **(12c)**.

Comme micro-organismes tests pour ces déterminations on a utilisé des cultures pures de bactéries et champignons (levures et moisissures), isolés de la microflore spécifique et non-spécifique des produits alimentaires, comme agents d'altération ou des indicateurs de la sécurité alimentaire.

Les tests ont été réalisés *in vitro*, par la culture des microorganismes tests sur des milieux géloses et dans milieux liquides spécifiques (bullions de chair, pour les bactéries, et moût de malt, pour les levures et moisissures).

L'évaluation qualitative du potentiel d'inhibition des composés investigués a été réalisée par la méthode difuziométrique, après 72 heures de culture de microorganismes tests à la température optimale, spécifique pour chaque espèce. Pour établir l'effet quantitatif des substances avec le plus grand potentiel d'inhibition on a analysé la croissance des cellules, en conditions stationnaires, en milieu liquide, en présence de différentes concentrations d'inhibiteur (25-500 mg/100mL), par la modification de la turbidité ou par la formation d'un voile ou d'une pellicule à la

surface de milieu, après 24, 48, 72 heures de culture, comparatif avec un témoin sans inhibiteur.

L'analyse des résultats obtenus nous permet de tirer les conclusions suivantes:

- les sels diquatéraux de 4,4'-bipyridinium, symétriques ou non-symétriques, présentent une activité antibactérienne et antifongique intense, aux concentrations assez faibles;
- l'activité biologique des composés investigués peut être expliquée par leur structure ionique, étant en même temps favorisée par leur solubilité dans l'eau;
- la nature des substituants des anneaux aromatiques n'influence pas décisive l'activité biologique, ceci influençant surtout la sélectivité;
- l'étude inclut comme élément d'originalité l'évaluation de l'activité antimicrobienne d'un dérivé pyridinium-indolizine, nouveau synthétisé.

Creșterea continuă a rezistenței microorganismelor la tratamentele specifice a impus necesitatea de a identifica permanent compușii cu rol antiseptic, conservant sau de pesticide, cu efect microbiostatic și microbicid, cu spectru antibacterian și antifungic.

Sărurile mono și dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu reprezintă o clasă de compuși cu efecte biologice multiple, și sunt descrise de literatura de specialitate ca potențiale pesticide. Astfel, unii dintre acești compuși se regăsesc în compoziția unor erbicide cu efect inhibitor asupra speciilor de plante *Xanthium strumarium*, *Digitaria ciliata*, *Cyperus rotundus*, *Echinochloa crus-galli* sau *Spirodela oligorrhiza*. În combinație cu alte erbicide acestea sunt eficiente contra plantelor acvatiche^(56, 185, 211-215). Reprezentanți ai acestei clase sunt utilizați în compoziția unor medicamente, ca agenți anticoccidiostatici sau cardiovasculari, agenți hipotensivi și neuromusculari^(216, 217). De asemenea, s-a demonstrat că, în concentrații foarte mici, aceste săruri pot avea efect antimicrobian asupra bacteriilor (*Escherichia coli*) cât și asupra drojdiilor (*Sacharomyces cerevisiae*)⁽²¹⁸⁻²²⁰⁾.

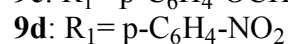
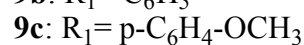
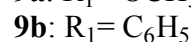
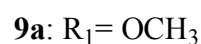
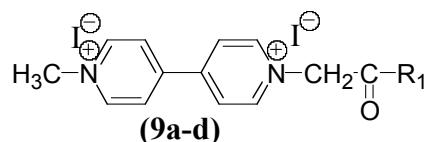
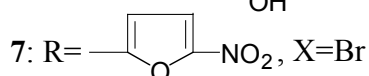
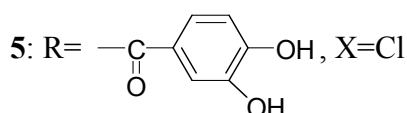
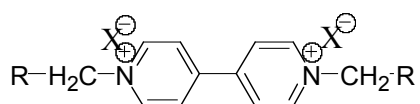
Datorită specificității largi de acțiune antimicrobiană, sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridil sunt recomandate pentru utilizare în compoziția produselor pentru igienizare, în industria alimentară (spații tehnologice, utilaje, suprafețe sau ambalaje), precum și în unități de alimentație publică, spitale etc.

Având în vedere mecanismul de acțiune al unui agent dezinfectant, în prima fază are loc fixarea acestuia la suprafața celulei (prin legături chimice sau

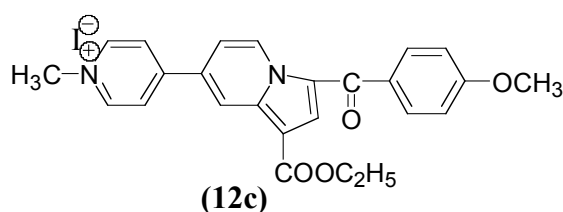
electrostatice). Sărurile cuaternare de amoniu, cu sarcină pozitivă, se leagă facil de suprafața celulelor microbiene, cu sarcină negativă, generând un efect de inhibare a creșterii și activității fiziologice (efect microbiostatic). Ulterior are loc difuzia intracelulară a sării, care generează modificări chimice ale unor compuși din structura internă a celulei, cu efect microbicid. Astfel, în funcție de efectul calitativ și cantitativ al compusului inhibitor și de sensibilitatea celulei microbiene, apar modificări ale permeabilității membranei plasmatică, dezechilibre în schimbul osmotic și ale căilor metabolice de bază, care conduc la moartea celulelor (efect microbicid).

Efectul microbiostatic sau microbicid al unor substanțe chimice trebuie corelat și cu natura microorganismelor, starea fiziologică în care se găsesc celulele (forma vegetativă sau sporulată), cât și cu concentrația de microorganisme din mediul în care acționează substanța.

Studii anterioare au demonstrat efectul antimicrobian al sărurilor monocuaternare⁽²²¹⁾ și respectiv dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu, simetrice⁽²²²⁾ și nesimetrice^(223, 224). Pornind de la aceste rezultate prezentul studiu a urmărit stabilirea efectului antibacterian și antifungic al unor noi săruri dicuaternare simetrice (**5**), (**7**) și nesimetrice (**9a-d**) derivate de la 4,4'-bipiridil, a căror sinteză a fost prezentată în subcapitolul III.1. S-a încercat totodată stabilirea unor corelații între structură și efectul biologic al compușilor studiați.



Având în vedere datele din literatura de specialitate privind efectul antimicrobian cantitativ și calitativ al derivaților de tip indolizinic^(225, 226), precum și activitatea antimicrobiană a sărurilor de piridiniu, cercetările au vizat și evaluarea capacității inhibitorii a unor compuși de tip piridiniu-indolizinic, nou sintetizați de tip (**12**), respectiv derivatul (**12c**):



În calitate de microorganisme test pentru aceste determinări s-au utilizat culturi pure de bacterii și fungi (drojdii și mucegaiuri), izolate din microbiota specifică și nespecifică a unor produse alimentare, ca agenți de alterare sau indicatori ai siguranței alimentare:

✱ Bacterii:

- *Bacillus subtilis*, bacterie de putrefacție, sporulată, Gram-pozitivă, formele sporulate prezentând rezistența la acțiunea substanțelor chimice;
- *Sarcina lutea*, bacterie agent de alterare, Gram-pozitivă, prezentă în aer, pe suprafețe, în microbiota superficială a pielii și în microbiota alimentelor.

✱ Mucegaiuri:

- *Aspergillus niger* și *Aspergillus glaucus*, contaminante ale alimentelor și materiilor prime de origine vegetală, agenți de putrezire, pot avea potențial toxicogen datorită producerii de micotoxine;
- *Fusarium graminearum*, fung filamentos larg răspândit în microbiota epifită a plantelor și în sol, specie potențial fitopatogenă (produce boli la plantele tinere în cultură) și toxicogenă (produce micotoxine care induc îmbolnăvirea denumită ATA - Aleuchie toxică alimentară);
- *Geotrichum candidum*, contaminant al produselor lactate acide (brânzeturi, produse lactate fermentate, produse vegetale fermentate) și al utilajelor din industria laptelui, extrem de rezistent la acțiunea agenților de dezinfecție.

✱ Drojdii:

- *Sacharomyces cerevisiae*, specie de drojdii cu proprietăți fermentative cu aplicații în biotehnologie (spirt, panificație etc);
- *Rhodotorula glutinis*, agent de alterare al produselor de origine vegetală, a brânzeturilor etc, păstrate la temperaturi de refrigerare (0°C...4°C);

- *Candida mycoderma*, drojdie oxidativă, peliculară, responsabilă de oxidarea alcoolului etilic din băuturile slab alcoolice (vin, bere etc), păstrate în vase cu gol de aer.

Testarea efectului antimicrobian s-a realizat *in vitro*, prin cultivarea microorganismelor test pe medii solidificate cu agar și în medii lichide specifice (bulion de carne, pentru bacterii, și must de malț, pentru drojdii și mucegaiuri). Testările s-au realizat în cadrul Laboratorului de Microbiologie a Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor din Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați.

Evaluarea calitativă a potențialului de inhibare al compușilor testați s-a realizat prin metoda difuzimetrică, după 72 de ore de cultivare a microorganismelor test la temperatura optimă, specifică pentru fiecare specie. Pentru stabilirea efectului cantitativ al substanțelor cu cel mai mare potențial de inhibare s-a analizat creșterea celulelor, în condiții staționare, în mediu lichid, prin evaluarea modificării turbidității sau formarea de voal sau peliculă la suprafața mediului, după 24, 48, 72 ore de cultivare în mediu lichid cu adaos de diferite concentrații de inhibitor (25-500 mg/100mL), comparativ cu o probă martor fără inhibitor.

În cazul analizei difuzimetrice, concentrații mari de celule ale microorganismelor test s-au inoculat în mediu de cultură specific cu agar, fluidificat și temperat la 42°C, în plăci Petri sterile. După omogenizare și solidificarea mediului în placă pe suprafața acestuia s-au plasat discuri sterile din hârtie de filtru ($\phi=19\text{mm}$), îmbibate (timp egal, 10 minute) cu soluții (5mg/mL) în apă ale compușilor chimici testați. Martorul l-a constituit un disc îmbibat în apă distilată. Plăcile au fost termostatate în condiții optime pentru dezvoltarea culturilor test (la temperatura de 37°C pentru bacterii, și respectiv la temperatura de 25°C, pentru drojdii și mucegaiuri), urmărindu-se la intervale de 24 ore, diametrul zonei de inhibare (D_{zi} , mm) și caracteristicile de cultură ale microorganismelor test (pigmentație, intensitatea sporulării etc.).

În tabelul IV.2.1. sunt prezentate rezultatele obținute, după 72 de ore de cultivare, prin analiza diametrelor (exprimate în milimetri) zonelor de inhibiție a creșterii tulpinilor test în jurul discului de hârtie de filtru.

În funcție de mărimea zonelor de inhibiție se propune o clasificare a compușilor chimici după cum urmează⁽²²⁷⁾:

- cu efect inhibitor slab, $D_{zi} \leq 20$ mm;
- cu efect inhibitor moderat, $D_{zi} = 20 - 40$ mm;
- cu efect inhibitor puternic, $D_{zi} \geq 50$ mm.

Tabelul IV.2.1. Efectul antibacterian și antifungic calitativ al unor compuși de sinteză, derivați structurali de la 4,4'-bipiridil.

Substanța testată	Tulpini test								
	<i>Sarcina lutea</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida mycoderma</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus glaucus</i>	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Geotrichum candidum</i>
H₂O (martor)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	57	20	0	0	0	0	0	20	0
7	31	24	0	0	0	0	0	0	0
9a	20	32	0	20	0	20	20	0	0
9b	25	60	20	0	0	29	20	0	0
9c	30	54	33	0	0	30	32	0	20
9d	20	57	0	0	0	23	22	0	0
12c	28	27	0	0	0	20	20	0	0

Analiza datelor din tabelul IV.2.1, conduce la următoarele concluzii:

- toți compușii testați prezintă o intensă activitate antibacteriană, deosebit de interesant fiind efectul bactericid spectaculos asupra lui *Bacillus subtilis* ($D_{zi} = 20-60$ mm, figura. IV.2.1), bacterie sporogenă rezistentă la substanțe chimice, înzestrată cu capacitate de adaptare, precum și efectul antimicrobian manifestat față de specia *Sarcina lutea* ($D_{zi} = 20-57$ mm, figura IV.2.2);

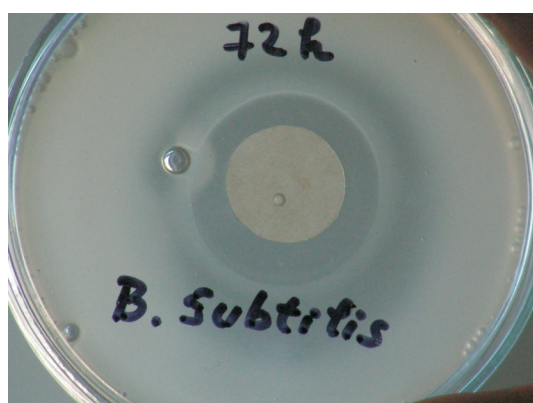
- efectul inhibitor asupra mucegaiurilor este moderat, cele mai sensibile specii fiind cele ale genului *Aspergillus* (*A. niger* și *A. glaucus*), în prezența compușilor (**9a**, **9b**, **9c** și **9d**) și (**12c**) inhibarea manifestându-se prin inhibare totală a dezvoltării mucegaiurilor sau doar printr-o inhibare a sporulării (figura IV.2.3). Sarea (**9c**) este singurul compus de sinteză derivat de la 4,4'-bipiridil care inhibă parțial dezvoltarea

lui *Geotrichum candidum*, iar sarea (5) este singurul compus chimic ce prezintă o slabă activitate inhibitorie asupra creșterii speciei *Fusarium graminearum*;

- compușii (9b, 9c) au o activitate de inhibare moderată ($D_{zi} = 20-33$ mm) asupra speciei *Rhodotorula glutinis* (figura IV.2.4), iar compusul (9a) este singurul inhibitor la speciei *S. cerevisiae*, în timp ce dezvoltarea speciei *Candida mycoderma* nu este afectată de compușii de sinteză analizați;

- compusul (7) nu exercită efect antifungic, pentru tulpinile test analizate,

- compușii (9b) și (9c) prezintă cel mai larg spectru de inhibare, demonstrat față de bacterii, drojdii și mucegaiuri, iar derivatul piridiniu-indolizinic (12c) manifestă o acțiune moderată antibacteriană și antifungică.



(a)



(b)



(c)

Figura IV.2.1. Inhibarea dezvoltării speciei *Bacillus subtilis*, după 72 de cultivare pe mediu specific cu agar, în prezența compușilor de sinteză derivați de la 4,4'-bipiridil

(a) (9a); (b) (9c); (c) (12c)

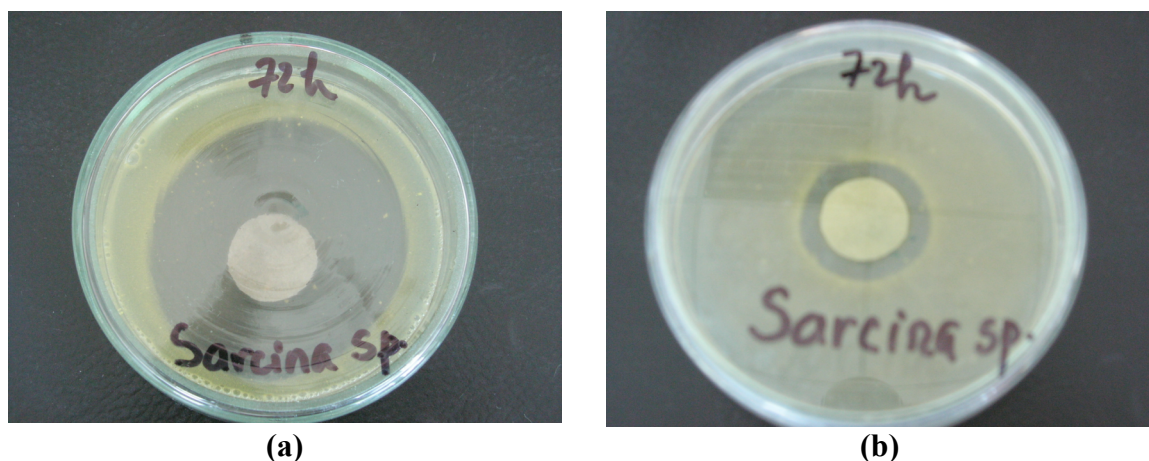


Figura IV.2.2. Inhibarea dezvoltării speciei *Sarcina lutea*, după 72 de cultivare pe mediu specific cu agar, în prezența compușilor de sinteză derivați de 1a4,4'-bipiridil:

(a) (5); (b) (12c)



Figura IV.2.3. Acțiunea antifungică a compusului de sinteză (9c) asupra speciilor genului *Aspergillus*

(a) *A. niger*; (b) *A. glaucus*

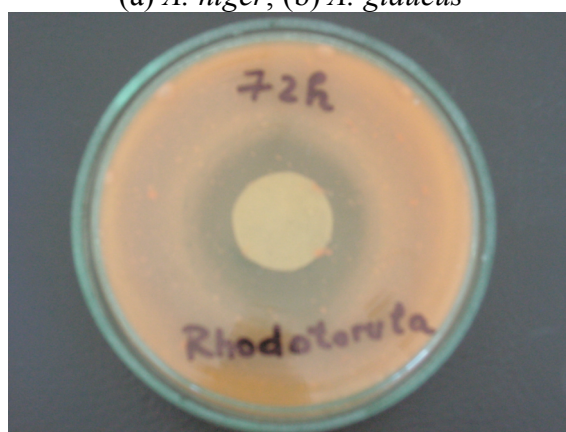


Figura IV.2.4. Inhibarea dezvoltării speciei *Rhodotorula glutinis* de către compusul (9c)

În figura IV.2.5 se redă gradul de inhibare al compușilor cu activitate înaltă și moderată, comparativ cu cei care dau un efect slab de inhibare.

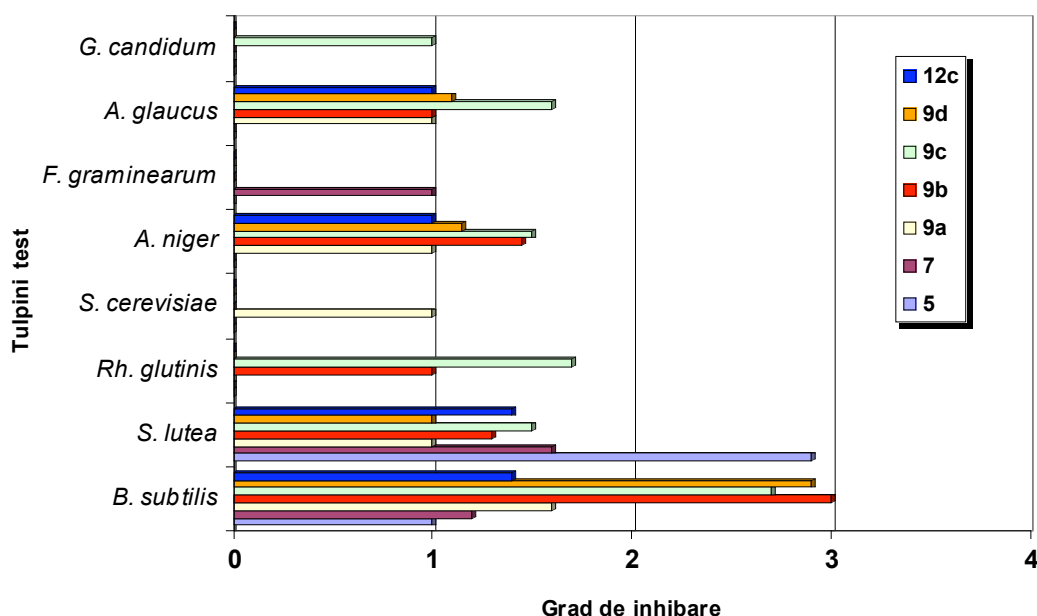


Figura IV.2.5. Activitatea antimicrobiană a sărurilor dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu și a piridiniu-indolizinelor

Din figura IV.2.5 rezultă clar efectul antibacterian și antifungic al compușilor (9b), (9c) și (9d).

Pentru stabilirea efectului cantitativ al substanțelor cu cea mai eficientă acțiune antimicrobiană s-a evaluat potențialul de dezvoltare a microorganismelor în mediu cu adaos de inhibitor în concentrații de 25, 50, 100, 250 și 250 mg/100 mL. Ținând cont de rezultatele obținute prin metoda difuzimetrică, au fost aleși pentru analiză, cei mai activi compuși (5), (9b-d) și (12c), precum și tulpinile asupra cărora s-a manifestat predominant efectul lor de inhibare. Culturile au fost termostatate la 37°C pentru bacterii și respectiv 25°C pentru drojdii și mucegaiuri, dezvoltarea lor fiind urmărită la intervale de 24 ore, în raport cu un martor (mediu de cultură).

Creșterea culturilor a fost evaluată în cazul tulpinilor bacteriene prin creșterea turbidității asociată de formarea unui sediment în cazul lui *Sarcina lutea* și respectiv cu formarea unui voal de culoare alb-cenușie la suprafața culturii cu tendință de ridicare pe pereții vasului, în cazul lui *Bacillus subtilis*. Creșterea mucegaiurilor s-a urmărit prin apariția unei derme groase, cutate, sporulate, iar în cazul drojdiilor prin creșterea turbidității mediului și formarea de voal la suprafață.

Rezultatele obținute au demonstrat că dezvoltarea bacteriilor testate (*Sarcina lutea* și *Bacillus subtilis*) este complet inhibată de piridiniu-indolizina (12c) și de

sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu (**9b**, **9c** și **9d**), chiar la doze de 25mg/100mL mediu.

De asemenea, efectul antifungic al compusului (**9c**) este total asupra *Aspergillus niger*, până la concentrații de 25mg/100 mL mediu, dar este diminuat asupra lui *Aspergillus glaucus* la doze mai mari de 100mg/100 mL mediu, la care s-a înregistrat o capacitate redusă de dezvoltare și încetinirea sporulării.

Dezvoltarea drojdiei din specia *Rhodotorula* este complet inhibată de sarea (**9c**) la toate concentrațiile testate.

Analiza rezultatelor prezentate mai sus ne permit să tragem următoarele concluzii:

- sărurile dicuaternare de 4,4'-bipiridiniu, simetrice sau nesimetrice, prezintă o activitate antibacteriană și antifungică intensă, la concentrații destul de mici;
- activitatea biologică a compușilor testați ar putea fi explicată de structura lor ionică, fiind totodată favorizată de solubilitatea acestora în apă;
- natura substituenților din inelele aromatice ale compușilor studiați nu influențează decisiv activitatea biologică, aceștia afectând mai ales selectivitatea;
- studiul include ca element de originalitate evaluarea activității antimicrobiene a unui derivat complex piridiniu-indolizinic, nou sintetizat.

IV.3. L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS ÉLECTRIQUES ET OPTIQUES

Dans cette thèse, on s'est proposé d'examiner les propriétés thermoélectriques et optiques des certains nouveaux sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium (**8**, **9a-d**) et d'un dérivé pyridinium-indolizine (**12d**), sur des films en couche mince. Les échantillons ont été obtenus par déposition des produits sur des supports en verre, par la technique „spin-coating” utilisant comme solvant la diméthyl-formamide. Par la choix des conditions de déposition (la concentration des solutions, la vitesse de rotation, l'accélération), des couches organiques ont été obtenues compactes et homogènes, avec une épaisseur uniforme et une bonne adhérence au substrat. Pour l'étude de la dépendance de température de la conductivité électrique, σ , et du coefficient Seebeck, S , nous avons utilisé des cellules type surface, avec des électrodes d'indium et d'argent ($d \approx 1\text{ mm}$), séparées par un espace entre 3-5 mm, qui ont été déposées sur le substrat, par évaporation thermique sous vide, avant la déposition des substrats organiques. La topographie des surfaces des échantillons analysés a été analysée par microscopie de force atomique (AFM). Les composés organiques étudiés ont été analysés aussi du point de vue des applications comme thermistors potentiels. Le fonctionnement comme thermistor est basé sur la dépendance de température de la résistance électrique d'un semi-conducteur dans le domaine de la conduction intrinsèque. En vue de la détermination de la nature et de la valeur de l'énergie de la bande interdite pour les produits étudiés, on a étudié l'absorption optique des couches organique respectives.

Suite à l'étude effectuée on peut tirer les conclusions suivantes:

- les nouveaux sels quaternaires de 4,4'-bipyridinium ainsi que les nouvelles pyridinium-indolizines synthétisées, en couches minces présentent des caractéristiques typiques de semi-conducteurs de type n, avec structure polycristalline;
- le transport électronique dans les composés étudiés est fortement influencé par leur structure moléculaire, qui favorise une conjugaison élargie, ainsi que par leur capacité d'empaquetage, qui permet des configurations planes;
- le mécanisme de transfert des électrons dans les sels organiques peut être expliqué par le modèle de conduction en bandes;
- le largeur optique de la bande interdite directe des composés étudiés se trouve dans l'intervalle 3.78-4.00 eV;
- les composés organiques examinés sont prometteurs pour les applications technologiques comme thermistors.

În ultimele trei decenii, semiconductorii organici în straturi subțiri s-au bucurat de o atenție sporită datorită potențialelor aplicații tehnologice, precum și interesului academic față de aceste materiale⁽²²⁸⁻²³⁰⁾. Combinarea proprietăților electrice de semiconductori cu avantajele tehnologiei de preparare (obținere și modelare facile), îi face să fie potriviți pentru o serie largă de aplicații de la fotodetectori și senzori la computere portabile, carduri flexibile inteligente și ecrane plate⁽²³¹⁻²³³⁾.

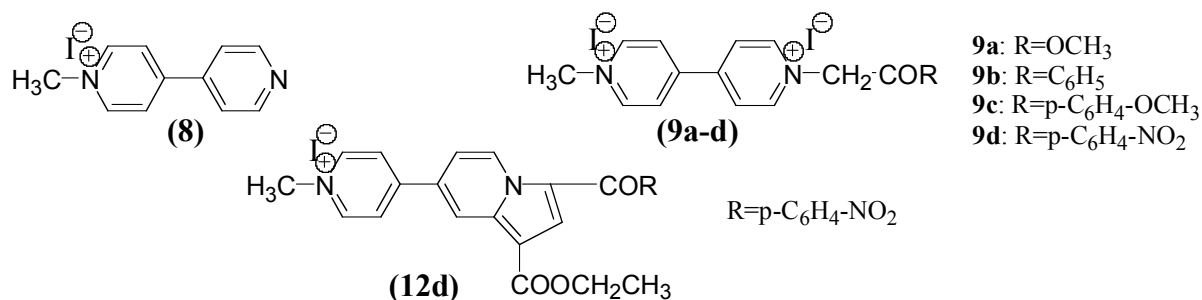
Semiconductorii organici prezintă proprietăți fizice interesante (bandă interzisă în regiunea infraroșu-vizibil, mobilitate ridicată a purtătorilor de sarcină, electroluminiscență sporită), precum și proprietăți chimice și mecanice ce pot fi modulate prin modificări ale structurii chimice⁽²³⁴⁾. Alături de o versatilitate ridicată, aceste caracteristici fac din noile materiale organice candidați promițători pentru o nouă generație de dispozitive electronice și optoelectronice cu preț redus („plastic electronics”): diode Schottky⁽²³⁵⁾, tranzistori⁽²³⁶⁻²³⁹⁾, diode organice (polimerice) emițătoare de lumină^(231, 240, 241), fotodiode⁽²³¹⁾, laseri⁽²⁴²⁾ și dispozitive fotovoltaice^(243, 244).

Performanța acestor dispozitive depinde de eficiența transportului purtătorilor de sarcină în straturile organice respective. De aceea în ultimii ani, un număr mare de cercetări au fost dedicate înțelegerii mecanismelor de transport de sarcină în materialele organice semiconductoare⁽²⁴⁵⁻²⁵¹⁾. Un număr mare de articole au arătat că proprietățile optice și conducția electrică ale acestor compuși (monomeri, polimeri, complecși cu transfer de sarcină, etc.) depind de structura lor moleculară. Prin urmare, este foarte important de stabilit unele corelații între structura chimică a materialelor și valorile parametrilor fundamentali caracteristici (energia de activare, concentrațiile și mobilitățile purtătorilor de sarcină, etc.) care descriu proprietățile lor semiconductoare.

Într-o serie de articole anterioare⁽²⁵²⁻²⁵⁷⁾, au fost examinate proprietățile electrice și optice ale unui număr semnificativ de compuși organici semiconductori și au fost stabilite unele corelații între aceste caracteristici și structurile moleculare respective.

În lucrarea de față, ne-am propus să investigăm proprietățile electrice ale unor noi săruri cuaternare de 4,4'-bipiridiniu (**8**, **9a-d**) și a unor compuși piridiniu-indolizini (**12d**), al căror mecanism de sinteză este prezentat în capitolul III. Studiul a fost realizat în colaborare cu un colectiv de cadre didactice de la Catedra de Fizica Corpului Solid din cadrul Facultății de Fizică al Universității „Al. I. Cuza” din Iași.

Compușii studiați au fost obținuți ca pulberi cristaline, stabile la temperatura camerei, conform metodelor descrise în partea experimentală.



Proprietățile electrice, termoelectrice și optice ale compușilor menționați au fost studiate pe eșantioane în strat subțire. Probele au fost obținute prin depunerea produșilor pe suporturi de sticlă, prin tehnica „spin-coating”⁽²⁵⁸⁻²⁵⁹⁾, utilizându-se ca solvent dimetil-formamida. Prin alegerea unor condiții corespunzătoare de depunere (concentrația soluțiilor, viteza de rotație, accelerația), au fost obținute straturi organice compacte și omogene, cu grosime uniformă și o bună aderență la substrat. Grosimea stratului obținut, *d*, a fost măsurată cu un microscop interferențial MII-4 și valorile sale au fost situate între 0.06 și 0.60 μm.

Structura cristalină a probelor astfel preparate a fost examinată prin metoda difracției de radiații X (XRD), utilizând un difractometru DRON-2 (cu radiație Kα). Morfologia suprafețelor organice a fost investigată prin microscopie de forță atomică (AFM).

Astfel, experimental s-a determinat că straturile organice studiate au o structură policristalină (granulară), care depinde de natura compusului precum și de grosimea stratului și de condițiile de depunere.

În concordanță cu cercetările anterioare⁽²⁵²⁻²⁵⁶⁾ s-a constatat că se pot obține straturi organice, cu structură stabilă și proprietăți electronice de transport reproductibile, dacă după depunere, straturile sunt supuse unui tratament termic. În mod obișnuit acesta constă în câteva cicluri de încălzire/răcire într-un interval de temperatură, Δ*T*, caracteristic pentru fiecare compus investigat. Stabilitatea termică a compușilor studiați, în intervalul de temperatură respectiv (limitat superior de punctul de topire al compusului), a fost de asemenea verificată.

Pentru studierea dependenței de temperatură a conductivității electrice, σ, și a coeficientului Seebeck, *S*, au fost utilizate celule tip suprafață, cu electrozi de indiu și argint (*d*≈1mm), separați de un spațiu între 3-5 mm, care au fost depuși pe substrat, prin evaporare termică în vid, înaintea depunerii straturilor organice. Ohmicitatea contactelor dintre electrozi și stratul organic a fost verificată. În toate măsurările de transport electronic au fost utilizate câmpuri electrice slabe (cu intensitatea sub 100 V·cm⁻¹), astfel încât să nu se înregistreze efecte neohmice.

Dependența de temperatură a coeficientului Seebeck (puterea termoelectrică), S , a fost măsurată utilizând metoda sondei termice⁽²⁶⁰⁾. Diferența de temperatură dintre electrozi, $\Delta T = T_2 - T_1$, a fost de 10-12 K. Valoarea lui S s-a determinat cu ajutorul relației:

$$S(T) = \frac{V_s}{\Delta T} \quad (1)$$

unde: V_s reprezintă tensiunea Seebeck, măsurată cu un electrometru tip KEITHLEY 6517A, ce corespunde temperaturii $T = (T_1 + T_2)/2$.

Absorbția optică a straturilor, în intervalul spectral 320-800 nm, a fost de asemenea studiată utilizând un spectrofotometru UV-VIS LAMBDA 3 PERKIN ELMER. Coeficientul de absorbție, α , a fost determinat pe baza relației:

$$\alpha = \frac{1}{d} \ln\left(\frac{1}{T}\right) \quad (2)$$

unde: d reprezintă grosimea stratului iar T este factorul său de transmisie. Ecuația (2) este o relație aproximativă, deoarece nu include efectele reflexiei, fiind valabilă pentru straturile organice, pentru care reflectanța, R , este sub 10 % (pentru energia fotonilor, $h\nu$, mai mică decât lărgimea benzii interzise optice, E_g).⁽²⁶¹⁾

Pentru un număr mare de compuși organici semiconductori s-a observat, pentru intervale de temperatură mai ridicată, o dependență exponențială a conductivității electrice de temperatură, în acord cu binecunoscuta ecuație⁽²⁶⁰⁾:

$$\sigma = \sigma_0 \cdot \exp(-\Delta E/2kT), \quad (3)$$

unde: ΔE este energia termică de activare a conducției electrice, care în cadrul modelului conducției în benzi, este lărgimea benzii interzise; σ_0 este o constantă dependentă de natura materialului, iar k este constanta lui Boltzmann.

Conform ecuației (3), dependențele $\ln\sigma = f(10^3/T)$ trebuie să fie liniare, presupunând că parametrii preexponențiali nu depind de temperatură.

Presupunând că dependența (3) este valabilă și pentru straturile organice investigate, am trasat curbele $\ln\sigma = f(10^3/T)$ în timpul tratamentului termic. S-a constatat că forma acestor curbe, în cazul straturilor organice, depinde de natura compușilor, de grosimea stratului și de condițiile de depunere, și poate oferi informații utile despre procesele ce au loc în straturile respective. În figurile IV.3.1 și IV.3.2 sunt prezentate curbele obținute pentru doi dintre compușii investigați. O comportare asemănătoare la încălzire a fost observată pentru toți compușii studiați.

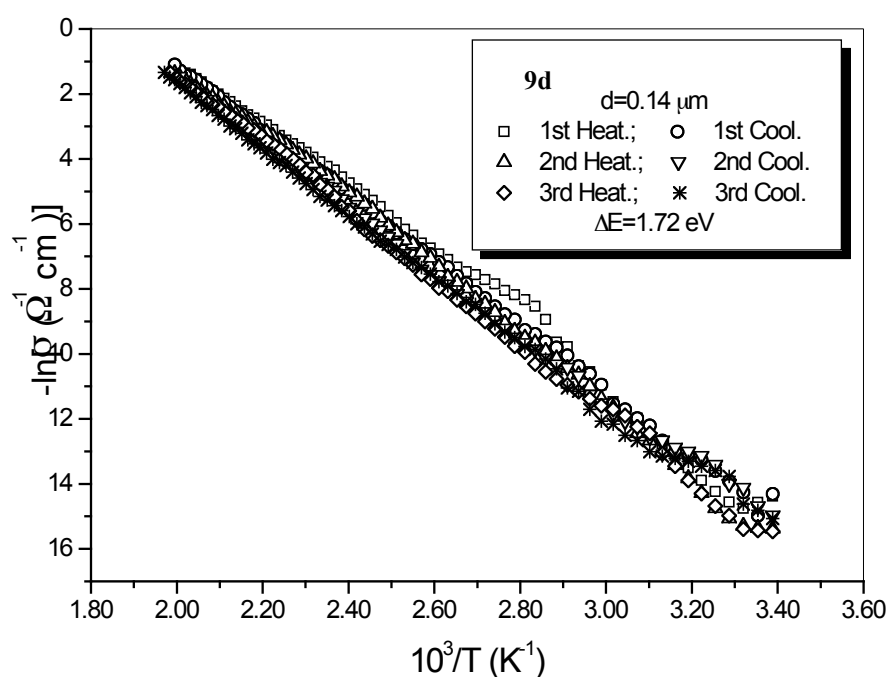


Figura IV.3.1. Dependența conductivității electrice de temperatură la tratarea termică a compusului (9d).

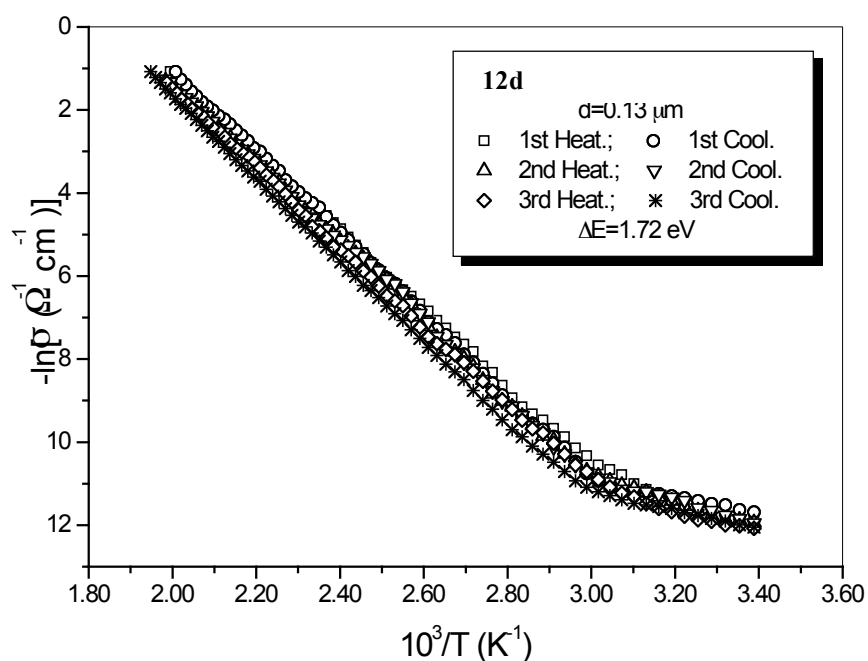


Figura IV.3.2. Dependența conductivității electrice de temperatură la tratarea termică a compusului (12d).

La prima încălzire, conductivitatea electrică este influențată de eliminarea gazelor absorbite sau adsorbite, a moleculelor de solvent și a altor impurități accidentale prezente în probe, precum și de schimbările structurale, etc.^(253, 257) După 2-3 cicluri succesive de încălziri și răciri, se poate observa cu ușurință, că dependența de temperatură a conductivității electrice devine reversibilă. Acest lucru indică o stabilizare a structurii probei, în intervalul de temperatură respectiv.^(252, 253)

Pentru probele tratate termic, curbele $\ln\sigma=f(10^3/T)$ (figura IV.3.3) sunt tipice pentru materialele semiconductoare. În general, ele prezintă două regiuni distincte, cu pante diferite (indicând energii de activare diferite).

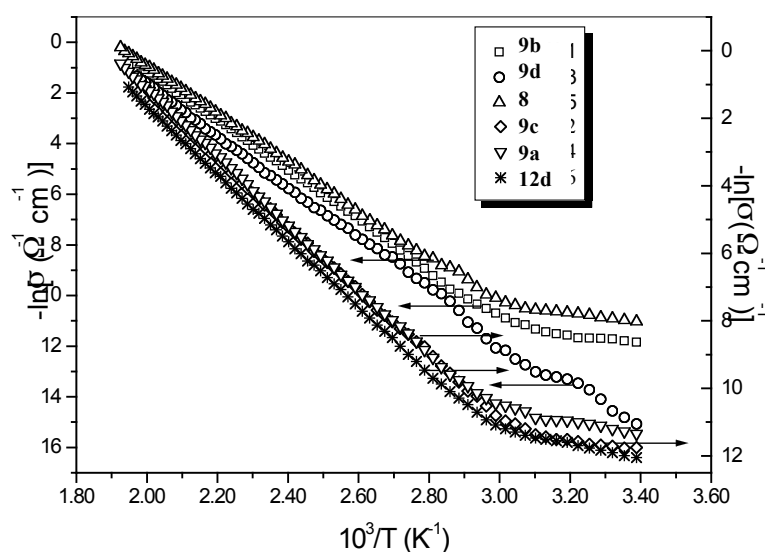


Figura IV.3.3. Dependența conductivității electrice de temperatură pentru straturile tratate termic.

Astfel, în domeniul temperaturilor scăzute ($T < T_c$, unde T_c este temperatura caracteristică⁽²⁵²⁾), prevalează conducția extrinsecă. Pentru acest interval de temperatură, panta corespunde diferenței de energie dintre nivelul donor și banda de conducție sau dintre nivelul acceptor și banda de valență.

În domeniul temperaturilor ridicate ($T > T_c$), în dependența $\ln\sigma=f(10^3/T)$ se observă o regiune cu pantă mai accentuată. În acest domeniu de temperatură, compușii sunt caracterizați de o conducție intrinsecă. Domeniul conducției intrinseci începe la temperatura T_c , care depinde de natura compusului, de grosimea probei și de structura stratului. Această temperatură este caracteristică pentru fiecare compus analizat (Tabelul IV.3.1). Se poate observa că în timpul tratamentului termic, valorile T_c se deplasează spre domeniul

temperaturilor mai joase, fapt ce indică o scădere a concentrației impurităților și defectelor în rețeaua cristalină a probelor cercetate⁽²⁵⁴⁾. În domeniul temperaturilor ridicate, panta curbelor $\ln\sigma=f(10^3/T)$ corespunde diferenței de energie dintre benzile de conducție și de valență, ΔE , ale cărei valori sunt date în Tabelul IV.3.1.

Tabelul IV.3.1. Rezultatele măsurătorilor de transport.

Compusul	d (μm)	$\sigma_c (\Omega^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$	ΔT (K)	$\sigma_T (\Omega^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$	T_c (K)	ΔE (eV)	b
8	0.06	2.03×10^{-5}	295-519	1.62×10^{-5}	360	1.61	1.10
9a	0.07	5.91×10^{-6}	295-519	1.17×10^{-5}	350	1.73	1.11
9b	0.11	7.29×10^{-6}	295-507	7.16×10^{-6}	380	1.68	1.14
9c	0.13	8.66×10^{-6}	295-501	7.86×10^{-6}	370	1.73	1.09
9d	0.14	5.71×10^{-7}	295-507	2.85×10^{-7}	345	1.72	1.08
12d	0.13	7.37×10^{-6}	295-513	5.86×10^{-6}	350	1.72	1.11

d-grosimea stratului; ΔT -intervalul de temperatură al tratamentului termic; σ_c and σ_T -conductivitatea electrică înainte și după tratamentul termic; T_c -temperatura caracteristică; ΔE -energia termică de activare a conducției electrice după tratamentul termic; b-raportul mobilităților purtătorilor de sarcină

După cum se poate observa din rezultatele prezentate mai sus, toți compușii studiați prezintă un comportament tipic semiconductor. Proprietățile lor semiconductoare sunt determinate de structura probelor în strat subțire, precum și de structura moleculară specifică a acestor compuși.

Astfel, în cazul moleculelor organice mici semiconductoare prezența grupărilor aromatice duce la apariția electronilor π puternic delocalizați de-a lungul scheletului molecular. Aceștia sunt responsabili pentru conducția electrică intramoleculară, datorită excitării lor termice. În general, cu cât numărul electronilor π este mai mare, cu atât energia internă a sistemului descrește și aparent este favorizat transferul de electroni pentru conducția electronică.

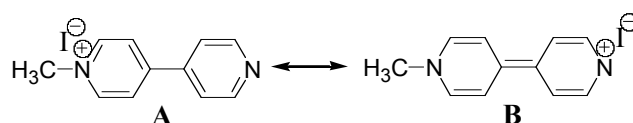
Moleculele organice conțin un sistem de electroni relativ mic, care este foarte sensibil față de excitare și față de adăugarea sau înlăturarea sarcinilor electrice prin procese de transport ce cauzează o rearanjare semnificativă în structura lor electronică.

Configurația moleculară a compușilor studiați tinde să favorizeze un sistem de conjugare extinsă. Natura și poziția substituenților în moleculă pare a influența conjugarea și prin urmare valorile energiilor de activare (Tabelul IV.3.1).

În același timp, materialele cristaline cu molecule mici sunt alcătuite din straturi moleculare strâns legate prin interacțiuni Van der Waals slabe. Cuplajul puternic al electronilor π din moleculele suprapuse are ca urmare o delocalizare crescută a purtătorilor de

sarcină. În acest mod, împachetarea moleculară joacă un rol important în comportarea electronică a acestor materiale⁽²⁶²⁾.

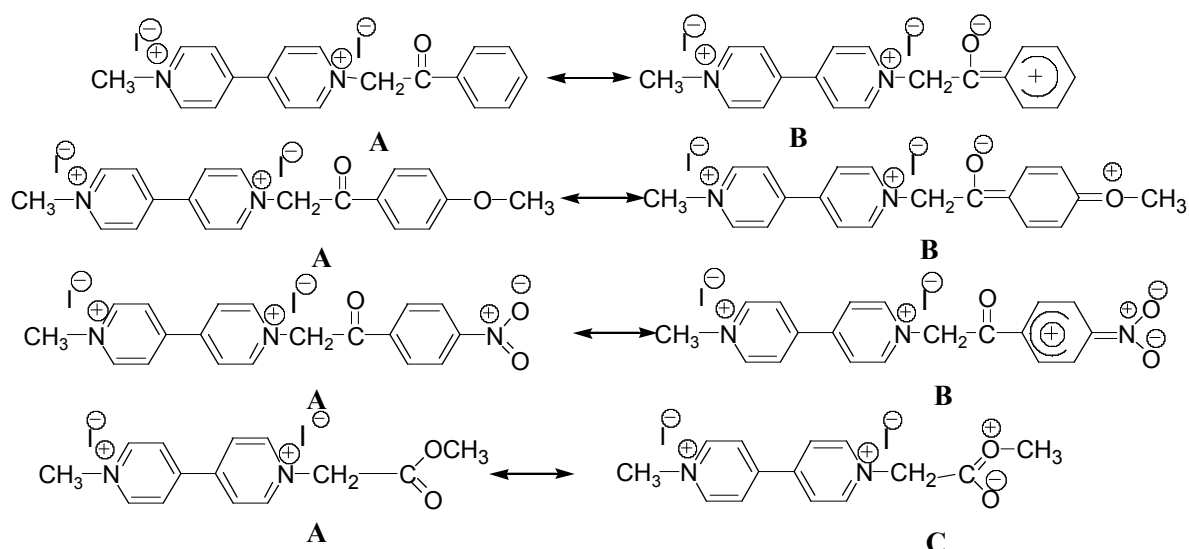
Diferențele înregistrate între energiile termice de activare (ΔE) ale compușilor investigați pot fi explicate ținând cont de capacitatea lor de a crea sisteme cu conjugare extinsă și de capacitatea de împachetare a straturilor monomoleculare respective. Astfel, valoarea scăzută a energiei de activare (ΔE) a compusului **(8)** comparativ cu cele ale compușilor **(9a, 9b, 9d, 12d)**, se datorează conjugării orbitalului vacant al azotului cuaternar cu electronii π ai inelului aromatic (Schema IV.3.1):



Schema IV.3.1

În urma acestei conjugări, legătura dintre cele două cicluri capătă caracter parțial de dublă legătură, împiedicând rotația liberă în jurul ei și determinând coplanaritatea întregii molecule, care constituie o condiție necesară pentru o împachetare eficientă a straturilor monomoleculare.

Conjugări similare nu pot apărea în cazul compușilor dicuaternari **(9a-d)**, conjugarea π - π dintre cele două cicluri este mult mai slabă, ceea ce permite o deviere ușoară a unuia dintre cicluri de la planeitate. Totodată, împachetarea în straturile moleculare suprapuse este influențată de substituenții de la celălalt atom de azot, de exemplu prin volumul lor și capacitatea acestora de a adopta o conformație plană, indusă de asemenea prin conjugări π - π (Schema IV.3.2):



Schema IV.3.2.

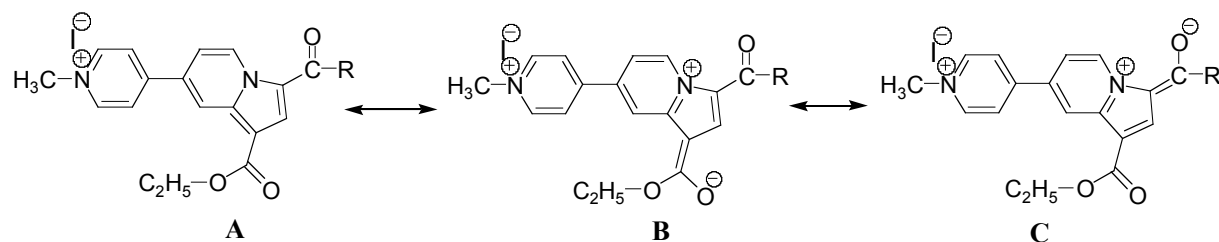
Structurile limită B și C evidențiază capacitatea substituenților voluminoși de a adopta conformații planare. Această interpretare este susținută, cel puțin în cazul compușilor (**9b-d**), cu structuri similare, de frecvențele caracteristice C=O în spectrul IR și de deplasările chimice ale protonilor din grupele CH₂ în spectrul ¹H-RMN. Astfel, în cazul compusului (**9b**), cu cel mai mic substituent, valoarea ΔE este mai mică decât pentru compușii (**9c**) și (**9d**), care prezintă grupe –OCH₃ și respectiv –NO₂ la capătul substituentului. Aceste grupări pot adopta o poziție perpendiculară pe planul inelului aromatic (structurile limită A).

Comparând valorile numărului de undă $\tilde{\nu}_{\text{C=O}}$ pentru compușii (**9b-d**), egale respectiv cu 1691 cm⁻¹, 1674 cm⁻¹ și 1698 cm⁻¹, se poate observa că în cazul compusului (**9c**) ordinul legăturii C=O este mai mic, datorită unei delocalizări a sarcinii pozitive într-un sistem mai mare, și în special datorită direcției deplasărilor electronice. În cazul compusului (**9d**), direcția deplasării electronice este inversată datorită efectului puternic –I și –E al grupării NO₂, care conduce la o creștere a ordinului legăturii C=O.

Aceste rezultate sunt de asemenea în concordanță cu ecranarea protonilor din grupa CH₂: valorile deplasărilor chimice δ_{CH₂} sunt egale cu 6.57 ppm, 6.51 ppm și respectiv 6.63 ppm pentru compușii (**9b-d**). Se poate observa că cea mai mare ecranare corespunde compusului (**9c**) și se datorează efectelor –I slab și +E puternic ale oxigenului din gruparea OCH₃, în timp ce protonii CH₂ ai compusului (**9d**) sunt cei mai dezecrați datorită efectelor –I și –E ale grupării NO₂.

Efecte similare dar mai slabe, datorate delocalizării sarcinii pozitive pe ambele inele aromatice precum și oxigenului din gruparea esterică (structura limită C), apar în cazul compusului (**9a**). Aici, deși delocalizarea este mare, ea nu conduce la o scădere a valorii ΔE, datorită devierii de la plan a grupei metil prin rotația liberă în jurul legăturii O-C.

Un caz special îl prezintă compusul piridiniu-indolizinic (**12d**), care, deși mult mai voluminos, este capabil să adopte o structură aproape planară. În continuare se va lua în considerare numai delocalizarea la nivelul fragmentului indolizinic (Schema IV.3.3), întrucât celelalte au fost analizate în cazul compușilor (**8**) și (**9d**).



Schema IV.3.3

Ca urmare a conjugărilor p- π prezentate în schema de mai sus, grupările –COR și $\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ sunt aduse în planul inelelor aromatice. Aceasta are drept consecință o descreștere semnificativă în ordinul dublelor legături C=O din compusul (**12d**): $\tilde{\nu}_{\text{C=O ester}} = 1701 \text{ cm}^{-1}$ și $\tilde{\nu}_{\text{C=O cetonă}} = 1640 \text{ cm}^{-1}$. Totodată, în acest caz sunt prezente structurile viniloge: **B** carbatat-vinilog și **C** amid-vinilog, caracterizate printr-o descreștere importantă a ordinului legăturii C=O.

În scopul obținerii unor informații relevante asupra mecanismului transferului electronic în probele studiate, a fost investigată și dependența de temperatură a coeficientului Seebeck. Experimentele au arătat că în toate intervalele de temperaturi ΔT studiate (tabelul IV.3.1), coeficientul Seebeck este negativ. Astfel, compușii studiați pot fi considerați ca fiind semiconductori de tip n (electronii sunt purtătorii de sarcină predominanți).

Figura IV.3.4 arată dependența de temperatură a coeficientului Seebeck, pentru cei șase compuși analizați. Se poate observa că, în domeniul conducției intrinseci ($T > T_c$), coeficientul Seebeck descrește cu creșterea temperaturii.

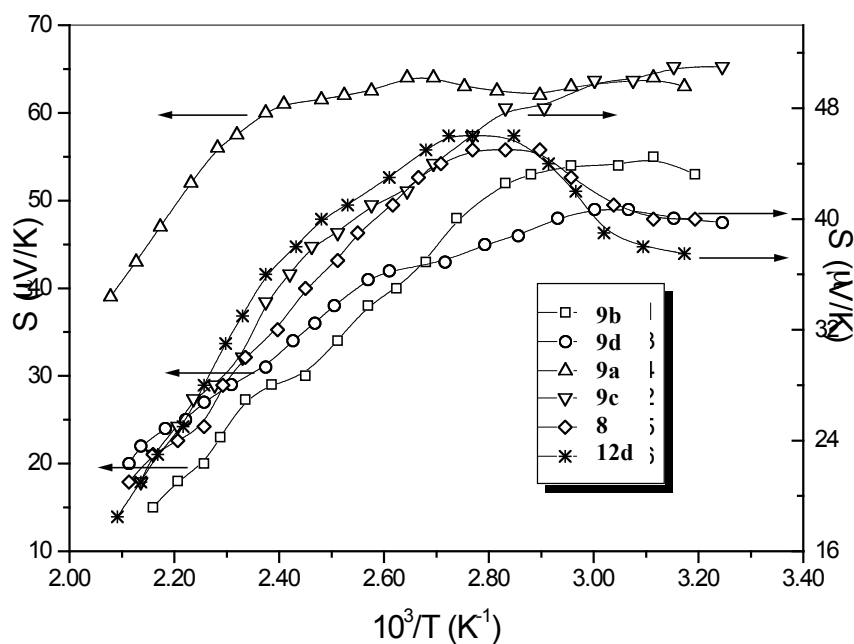


Figura IV.3.4. Dependența de temperatură a coeficientului Seebeck pentru compușii investigați

Dependența de temperatură a conductivității electrice și a coeficientului Seebeck, în domeniul temperaturilor ridicate ($T > T_c$), sugerează că modelul conducției în benzi poate fi utilizat pentru studierea mecanismului de transport electronic prin probele investigate.

Pe baza modelului de mai sus^(252, 263), au fost determinate valorile unor parametri caracteristici pentru probele respective, bazând-ne pe dependențele experimentale menționate.

Raportul purtătorilor de sarcină ($b = \mu_e / \mu_h$, μ_e și μ_h fiind mobilitățile electronilor, respectiv golurilor) a fost calculat cu relația (4)⁽²⁵³⁻²⁵⁴⁾:

$$b = \frac{(\Delta E/2) \cdot \Delta(10^3/T) - 10^3 |e| \Delta S}{(\Delta E/2) \cdot \Delta(10^3/T) + 10^3 |e| \Delta S} \quad (4)$$

unde: ΔS este variația coeficientului Seebeck corespunzător unei variații determinate, $\Delta(10^3/T)$, a inversului temperaturii, în domeniul conducției intrinseci a semiconductorului. Valorile $\Delta(10^3/T)$ și ΔS au fost estimate din dependențele experimentale $S=f(10^3/T)$ (figura IV.3.4).

Ecuția (4) a fost dedusă în domeniul conducției intrinsece, presupunând că în intervalul de temperatură respectiv valorile parametrilor de împrăștiere (care sunt condiționați de natura mecanismului de împrăștiere predominant în probele analizate) nu depind de temperatură⁽²⁶⁰⁾.

Se poate observa că valorile lui b sunt puțin mai mari decât 1. În general în materialele semiconductoare mobilitatea electronilor este mult mai mare decât a golurilor și b este de așteptat să depășească cu mult unitatea⁽²⁶⁰⁾. Dar în cazul straturilor subțiri policristaline, împrăștierea suplimentară a purtătorilor de sarcină (de către strat și suprafețele de separație ale cristalitelor) precum și alte caracteristici structurale (forma și mărimea granulelor, caracteristicile contactului intergranular, etc.), acționează în sensul diminuării semnificative a mobilității electronilor⁽²⁵³⁾.

Topografia suprafețelor probelor analizate a fost investigată prin microscopie de forță atomică (AFM). Figura IV.3.5 prezintă două imagini AFM tipice. Caracteristica microstructurală a acestor straturi este prezența unor granule mari cu o rugozitate a suprafeței destul de mare.

Analiza microgafiilor obținute pentru diferite probe relevă că straturile organice studiate sunt alcătuite din granule policristaline de diferite mărimi și forme, mărimea medie a granulelor (cristalitelor), în planul proiecțiilor, se situează între 0.52 – 2.77 μm , crescând odată cu creșterea grosimii stratului, în timp ce RMS se întinde în domeniul 12.14 – 159.95 nm.

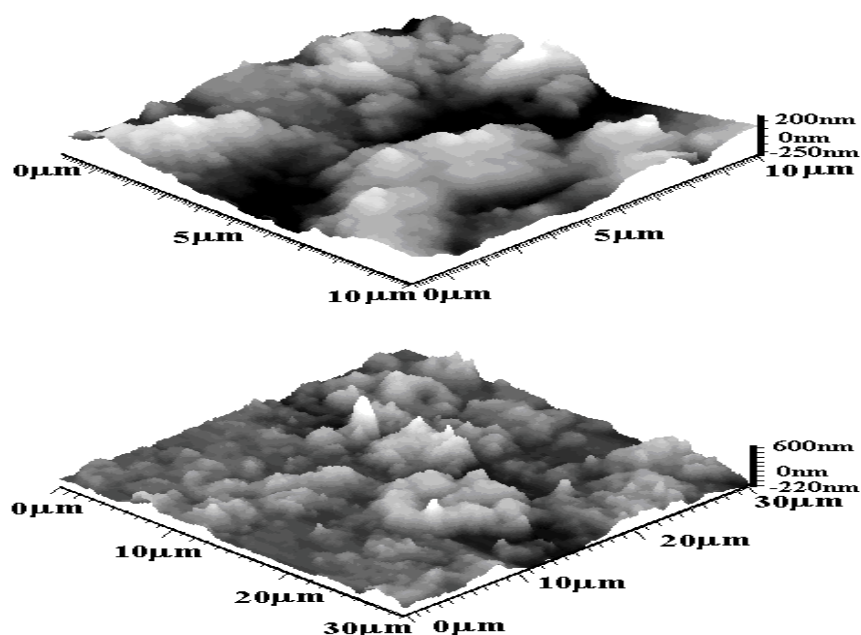


Figura IV.3.5. Imagini 3D AFM ale straturilor organice pentru compusul (9d): (a) $(10 \times 10) \mu\text{m}^2$; (b) $(30 \times 30) \mu\text{m}^2$

Se știe că⁽²⁶⁴⁻²⁶⁵⁾, în straturile subțiri cu structură granulară, mecanismul conducției electrice este influențat de caracteristicile intragranulare și domeniile de separație ale granulelor. Acest mecanism poate fi explicat prin aplicarea modelelor elaborate pentru straturile cu structură discretă⁽²⁶⁶⁻²⁶⁷⁾. Majoritatea acestor modele se bazează pe considerația că suprafețele de separație ale granulelor au o regiune de sarcină spațială datorită interfeței. În consecință, apare o flexiune a benzilor de energie ce are ca rezultat formarea unei bariere de energie potențială pentru transportul electronic. Dar aceste bariere de energie au în general valori scăzute (0.2-0.3 eV) și pot influența mecanismul conducției electrice doar în domenii de temperatură scăzută ($T < T_c$).

La temperaturi mai ridicate, pentru care straturile organice prezintă conducție intrinsecă, energia termică de activare a conducției electrice, ΔE , se apropie de $E_g/2$ (unde E_g este lărgimea benzii interzise a materialului respectiv)⁽²⁶⁸⁾.

Având în vedere aceste considerații, apreciem că împrăștierea la suprafața de separație reduce semnificativ mobilitatea electronilor. În aceste condiții, raportul mobilităților purtătorilor de sarcină poate să difere relativ puțin față de unitate.

Compușii organici studiați au fost analizați și din punctul de vedere al aplicațiilor ca potențiali termistori. Funcționarea ca termistor se bazează pe dependența de temperatură a rezistenței electrice a unui semiconductor în domeniul conducției intrinseci, dependență ce poate fi descrisă prin relația:

$$R_T = R_\infty \cdot \exp\left(-\frac{B}{T}\right) \quad (5)$$

unde: R_T este rezistența la temperatura T , R_∞ este un parametru dependent de natura semiconductorului (valoarea lui R_T pentru $T=\infty$), iar $B=\Delta E/2k$ caracterizează sensibilitatea la temperatură a termistorului.

Din ecuația (5), coeficientul de temperatură al rezistenței (α_T) poate fi exprimat ca:

$$\alpha_T = \frac{1}{R} \frac{dR}{dT} = -\frac{B}{T^2} \quad (6)$$

Valorile obținute pentru parametrii caracteristici, α_T (la temperatura $T=400$ K) și B sunt prezentate în tabelul IV.3.2. Așa cum se poate vedea din acest tabel, compușii organici examinați pot fi considerați candidați promițători pentru utilizarea ca termistori.

Tabelul IV.3.2. Parametrii caracteristici de termistor ai compușilor investigați

Compusul	d (μm)	α_T (K ⁻¹)	B (K)
8	0.06	-0.058	9370
9a	0.07	-0.063	10065
9b	0.11	-0.061	9730
9c	0.13	-0.063	10040
9d	0.14	-0.062	10000
12d	0.13	-0.062	9980

În scopul determinării naturii și valorii energiei benzii interzise pentru producții investigați, s-a studiat absorbția optică a straturilor organice respective.

În vecinătatea marginii benzii de absorbție fundamentală, coeficientul de absorbție, α , depinde de energia fotonului incident, $h\nu$, conform expresiei:

$$\alpha h\nu = A(h\nu - E_g)^n \quad (7)$$

unde: n este egal cu $\frac{1}{2}$ și 2 pentru tranzițiile optice permise directe și respectiv indirecte; E_g este lărgimea optică a benzii interzise și A este o constantă (un parametru caracteristic, independent de energia fotonilor). Valoarea E_g se determină în mod curent prin extrapolarea porțiunii liniare a curbei $(\alpha h\nu)^{1/n}$ versus $h\nu$ la valoarea zero a absorbției.

Figura IV.3.6 prezintă curbele de absorbție pentru compușii organici analizați. Datele experimentale arată că producții investigați au benzi interzise directe (E_{gd}) între 3.78 și 4.00 eV.

Valorile obținute (Tabelul IV.3.3) sunt mai mari decât cele ale energiei de activare a conducției electrice (Tabelul IV.3.1). Acest fapt se datorează naturii diferite a excitării purtătorilor în procesele respective (absorbție optică și respectiv conducție electrică). Valorile

lui E_{gd} corespund tranzițiilor directe bandă-bandă, în timp ce valorile lui ΔE sunt determinate de mecanismul transportului electronic în straturile organice respective.

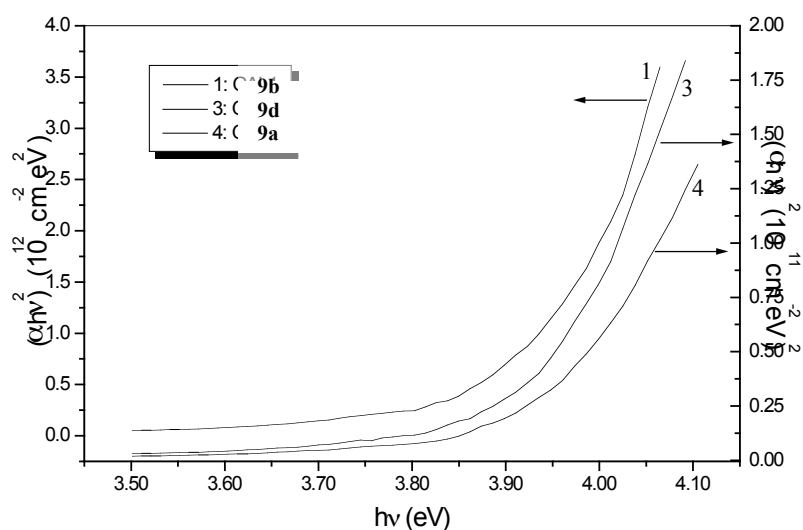


Figura IV.3.6. Spectrele de absorbție ale compușilor investigați ilustrând banda interzisă directă

Tabelul IV.3.3. Rezultatele măsurătorilor optice

Proba	d (μm)	E_{gd} (eV)
8	0.44	4.00
9a	0.38	3.92
9b	0.07	3.88
9c	0.50	3.90
9d	0.33	3.93
12d	0.60	3.78

În urma studiului efectuat se pot trage următoarele concluzii:

- noile săruri cuaternare de 4,4'-bipiridiniu precum și piridiniu-indolizinele sintetizate, în straturi subțiri prezintă caracteristici tipice de semiconductori de tip n, cu structură policristalină;

- transportul electronic în compușii investigați este puternic influențat de structura lor moleculară, care favorizează o conjugare extinsă, precum și de capacitatea lor de împachetare, ce permite configurații planare;

- mecanismul transferului de electroni în sărurile organice studiate poate fi explicat pe baza modelului conducției în benzi;

- lărgimea optică a benzii interzise directe a compușilor investigați se găsește în intervalul 3.78-4.00 eV;

- compușii organici examinați sunt promițători pentru aplicații tehnologice ca termistori.

IV.4. L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS FLUORESCENTES DES CYCLOADDUITS INDOLIZINIQUES

Considérant les applications potentielles des dérivés indoliziniques fluorescents, et spécialement comme marqueurs dans différents domaines de la chimie, biologie, médecine et environnement, dans la présente thèse nous nous sommes proposés d'étudier les propriétés photoluminescentes des nouveaux cycloadduits mono-indoliziniques, pyridinium-substitués, dérivés de la 4,4'-bipyridine. Ainsi, on a réalisé l'étude détaillée et approfondie de la fluorescence des pyridinium-indolizines (**12a-d**), (**15a, c**) et (**16a, c**).

Les études réalisées ont consisté à suivre l'influence sur la fluorescence des divers facteurs internes (présence des substituants) et externes (solvants, pH, électrolytes) ainsi que l'examen de l'interaction des cycloadduits synthétisés avec l'ADN, de point de vue de la variation de leur fluorescence.

Dans la série des dérivés indoliziniques (**12a-d**) ont été enregistrés les spectres d'absorption et d'émission, dans une série des solvants de différentes polarités (eau, éthanol 95%, chloroforme, diméthylformamide, acétone, acétonitrile). Les spectres ont été enregistrés avec un spectrophotomètre Perkin-Elmer 15 UV-VIS, travaillant aux longueurs d'ondes entre 200 et 600 nm. L'enregistrement des spectres d'émission a été fait sur un spectrophotomètre Perkin-Elmer LS50, travaillant dans la fenêtre 440-740 nm, avec l'excitation à la longueur d'onde λ_{max} la moins énergétique du spectre d'absorption. La largeur de la bande des fentes d'excitation et d'émission pour ces mesures a été de 2.5 nm.

En vue de la détermination de l'influence des substituants présents en positions 1 et 3 du noyau indolizine, sur la fluorescence des cycloadduits indoliziniques les spectres d'absorption et d'émission des dérivés indoliziniques ont été enregistrés dans l'eau.

Les déterminations du rendement quantique de fluorescence et d'autres caractéristiques spectrales ont été effectuées par rapport au standard 4-amino-phthalimide, en solution dans le 1-propanole.

Tenant compte des informations existantes dans la littérature sur l'influence du pH sur la fluorescence des composés organiques, en particulier pour les hétérocycles azotés, on a abordé l'étude de la fluorescence des cycloadduits pyridinium-indolizines (**12a, c**) et (**16a**), à différentes valeurs de pH. Les solutions analysées ont été préparées dans des tampons BRITTON-ROBINSON (x mL NaOH 0.2M pour 100 mL solution stock: 0.04 M CH₃COOH, 0.04 M H₃PO₄ et 0.04 M acide borique), correspondantes aux valeurs de pH: 1.98, 5.02, 7, 9.62, 11.82.

Considérant l'objectif proposé de créer de nouveaux marqueurs fluorescents pour les systèmes biologiques, on a réalisé une étude par spectroscopie de fluorescence, utilisant la méthode de la titration fluorimétrique, de l'interaction des cycloadduits pyridinium-indoliziniques nouvellement synthétisés avec l'ADN de thymus de veau. Ainsi, nous avons enregistré les spectres de fluorescence et d'absorption des échantillons dans lesquels la concentration du produit fluorescent a été maintenue constante ($0.6-0.7 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$) alors que la concentration d'ADN a été augmentée, dans les conditions d'un volume constant de l'échantillon. Nous avons ainsi préparé des échantillons avec des rapports molaires ADN:indolizine bien définis. On a essayé aussi de déterminer le mode d'interaction des cycloadduits avec l'ADN, par l'étude de l'influence de la force ionique sur les spectres d'absorption et d'émission des fluorophores indoliziniques en présence d'une quantité déterminée d'ADN.

Suite aux études effectuées on peut conclure que les cycloadduits indoliziniques synthétisés, du type **(12a-d)** et **(16a-d)**, présentent des propriétés fluorescentes intéressantes (en région vert), dépendantes des facteurs externes (solvants, pH) ainsi que des facteurs internes (la nature des substituants). En même temps, en présence de l'ADN les fluorophores mentionnés manifestent une forte extinction de fluorescence, suivant l'augmentation du rapport molaire ADN:fluorophore. Ce fait indique l'existence d'une interaction entre les cycloadduits indoliziniques et l'ADN, la nature de cette interaction n'a pas été complètement élucidée. Cette interaction apparaît aussi dans des conditions physiologiques et en conséquence on peut proposer l'utilisation de ces produits comme marqueurs fluorescents dans différentes analyses biochimiques et biologiques.

D'autre part, les études effectuées sur les cycloadduits de la série **(15a-d)**, montrent que ceux-ci présentent une très faible fluorescence, probablement due au reste 4-nitro-phenoxy-carbonyl et ils ne présentent ainsi pas d'intérêt pour la spectroscopie de fluorescence mais seulement un intérêt synthétique, comme intermédiaires pour la fonctionnalisation ultérieure du noyau indolizine.

Unii compuși, în urma acțiunii radiației luminoase din domeniul vizibil sau ultraviolet apropiat, suferă tranziții electronice, trecând de pe nivelul vibrațional $n=0$ al stării fundamentale S_0 pe unul din nivelele vibratorii ale unei stări excitate electronic S_n . În unele cazuri, aceste molecule excitate revin în starea fundamentală prin reemiterea integrală sau parțială a energiei absorbite sub forma unei cuante de lumină. Această emisie este cunoscută sub numele de luminiscență.

Sunt cunoscute două tipuri de fenomene luminescente: fluorescența și fosforescența, care diferă între ele după modul în care are loc dezexcitarea. Astfel, în cazul fluorescenței, moleculele emit fotoni direct din starea excitată, în timp ce moleculele fosforescente trec după excitare într-o stare intermediară, triplet, înainte de a emite fotoni. După excitare, intensitatea luminii emise descrește exponențial, conform expresiei $I_t = I_0 e^{-kt}$, care leagă intensitatea instantanee de durata de timp scursă. În cazul fluorescenței, descreșterea intensității luminoase emise este foarte rapidă (în general de câteva nanosecunde); prin urmare fluorimetrele uzuale necesită ca măsurătorile de fluorescență să fie efectuate în condiții de iluminare constantă, continuă, cu alte cuvinte în regim staționar.

Reprezentarea intensității de fluorescență staționară pe foton absorbit în funcție de lungimea de undă a fotonilor emiși, conduce la obținerea spectrului de fluorescență sau de emisie.

Variația intensității de fluorescență în funcție de lungimea de undă de excitare, pentru o lungime de undă de fluorescență fixată, oferă spectrul de excitație. Pentru o singură specie în starea fundamentală, spectrul de excitație este identic cu cel de absorbție; acest lucru nu este însă valabil pentru mai multe specii aflate în starea fundamentală.

Fenomenul de fluorescență se poate produce în sisteme chimice simple sau complexe, în stare gazoasă, lichidă sau solidă. Emisia de fluorescență poate fi concurată de celelalte căi de dezexcitare (încrucișare intersistemică, conversie internă, transfer de sarcină intermolecular, modificări conformaționale, formări de excimeri și exciplexi, etc.) ceea ce conduce la modificarea spectrului de fluorescență, a randamentului cuantic sau duratei de viață a fluorescenței. De asemenea, parametrii fizico-chimici de mediu (pH, presiune, viscozitate, temperatură, polaritate, potențial electric, legături de hidrogen, etc.) pot acționa asupra fluorescenței moleculare. Prin urmare fluorescența moleculară oferă informații asupra mediului înconjurător al moleculei excitate, constituind o modalitate de explorare a sistemelor (sonde fluorescente).

Dintre compușii fluorescenți, cea mai intensă și interesantă din punct de vedere aplicativ este fluorescența compușilor aromatici și respectiv a compușilor heterociclici aromatici, la care tranziția de cea mai joasă energie este în general de tip $\pi-\pi^*$ sau uneori $n-\pi^*$ (heterocicli cu azot).

Astfel, o serie de compuși organici fluorescenți, derivați de la piridină, au aplicații practice ca markeri, scintilatori și medii active pentru lasere⁽²⁶⁹⁻²⁷⁰⁾. Datele existente în literatură nu indică foarte mulți compuși derivați de la 4,4'-bipiridil cu proprietăți fotoluminiscente⁽²⁷¹⁾. Astfel, a fost intens studiată fluorescența unor combinații complexe ale

bipiridililor cu atomii pământurilor rare⁽²⁷²⁻²⁷⁴⁾, dar fluorescența bipiridilului sau a unor derivați organici ai acestuia nu a fost studiată foarte mult. Aceștia fie nu prezintă fluorescență, fie au o fluorescență foarte slabă a cărei origine nu este clar elucidată.

În schimb, 4,4'- și 2,2'-bipiridilii, constituie așa cum am arătat în capitolele anterioare precursorii unei clase de heterocicli cu azot (indolizinele), cu puternice și interesante proprietăți fluorescente. În ultimii ani, proprietățile fluorescente ale mono- și bis-indolizinelor, sintetizate prin diferite metode, au fost studiate de către cercetătorii români^(183, 192, 276) și străini^(37, 50, 51, 110, 151, 275).

Având în vedere, potențialele utilizări ale derivaților indolizinici fluorescenți, în special ca markeri în diferite domenii ale chimiei, biologiei, medicinei, biochimiei și protecției mediului, în prezenta teză ne-am propus studierea proprietăților fotoluminiscente ale unor noi cicloaducți mono-indolizinici, piridiniu-substituiți, derivați de la 4,4'-bipiridil.

Astfel, s-a realizat studierea detaliată și aprofundată a fluorescenței piridiniu-indolizinelor (**12a-d**), (**15a, c**) și (**16a, c**) (figura IV.4.1) a căror sinteză prin cicloadiții [3+2]-dipolare a sărurilor dicuaternare nesimetrice de 4,4'-bipiridiniu cu esteri propiolici și respectiv funcționalizare cu amine, a fost prezentată în subcapitolul III.2.

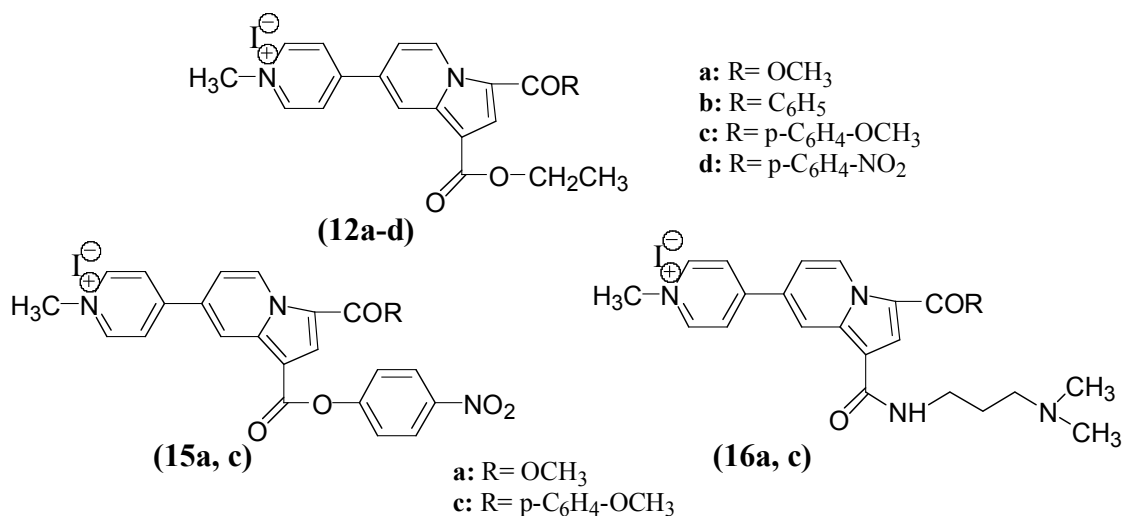


Figura IV.4.1. Structurile cicloaducților indolizinici investigați

Studiile realizate, în cadrul laboratorului L.E.D.S.S. – Universitatea „J. Fourier” Grenoble, Franța și parțial la Catedra de Spectroscopie a Universității „Al. I. Cuza”, Iași, au vizat influența asupra fluorescenței a diferitor factori interni (prezența substituenților) și externi (solvenți, pH, electroliți) precum și investigarea interacțiunii cicloaducților sintetizați cu ADN-ul, din punct de vedere al variației fluorescenței acestora.

IV.4.1. L'étude de l'influence des solvants et des modifications structurales sur la fluorescence des cycloadduits pyridinium-indoliziniques

În seria derivaților indolizinici (**12a-d**) au fost înregistrate spectrele de absorbție și respectiv de fluorescență, într-o serie de solvenți de diferite polarități (apă, etanol 95%, cloroform, dimetilformamidă, acetonă, acetonitril). Solvenții utilizați, de la Aldrich și Merck, pentru spectroscopie, au fost distilați suplimentar înainte de utilizare și puritatea lor a fost controlată prin înregistrarea spectrelor de absorbție.

Spectrele de absorbție au fost înregistrate cu un spectrofotometru Perkin-Elmer 15 UV-VIS, lucrând la lungimi de undă cuprinse între 200 și 600 nm. Înregistrarea spectrelor de emisie s-a realizat pe un spectrofotometru Perkin-Elmer LS50, lucrând în fereastra 440-740 nm, cu excitarea la lungimea de undă λ_{max} situată cel mai departe în spectrul de absorbție. Lărgimea benzii fantelor de excitare și de emisie pentru aceste măsurători a fost de 2.5 nm.

Înregistrarea tuturor spectrelor de absorbție și de emisie s-a realizat cu soluții de concentrație aproximativ constantă ($0.6-0.8 \times 10^{-5}$ M) și la temperatura camerei ($T=298\text{K}$).

În tabelul IV.4.1 sunt prezentate caracteristicile spectrelor de absorbție UV-VIS (lungimile de undă ale maximelor și coeficienții molari de extincție corespunzători) ale soluțiilor compuşilor (**12a-d**) în solvenții studiați.

Tabelul IV.4.1. Caracteristicile spectrelor de absorbție UV-VIS ale compuşilor (**12a-d**)

C omp.	$\lambda_{\text{max. abs.}}(\text{nm})/\epsilon(\text{L.mol}^{-1}\text{cm}^{-1})$					
	H ₂ O	EtOH 95%	CHCl ₃	DMF	Acetonă	CH ₃ CN
12a	404/27062 338/9978 284/67743 230/37111	410/20582 282/42130 230/26932 205/25023	428/16905 289/28251	408/20855 282/47671 259/9248	410/29594	411/20608 281/49672 230/27884
12b	413/21220 293/26531 228/23120	415/18630 296/27487 230/22611	432/15492 304/21475	414/19937 294/28807	417/27921	417/23848 295/36479 232/28502
12c	415/16595 359/8671 300/18077 226/18922	418/9889 302/13255 225/12390	436/18998 308/25477 272/18500	413/15564 296/23608 256/9794	418/20862 356/14211	420/28333 356/13341 300/41011 271/30655
12d	419/20112 289/27974 228/18606	418/17393 288/24502 229/16476	430/34583 292/47336 268/40369	419/32201 289/49706 262/3405 257/14286	418/31432	419/32558 288/51667 230/34861

Din spectrele de absorbție înregistrate se poate observa în primul rând că detectarea diferitelor benzi de absorbție depinde și de suprapunerea cu spectrul de absorbție al solventului: de exemplu, în acetonă se poate înregistra doar banda S_1 , situată la lungimile de undă cele mai mari (Figura IV.4.2). Toți compușii studiați prezintă un spectru continuu de absorbție, cu benzile S_1 și S_2 complet separate, banda S_1 fiind mai puțin intensă ($\epsilon = 9889\text{--}32558 \text{ LM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) decât banda S_2 ($\epsilon = 24502\text{--}67743 \text{ LM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Banda de cea mai joasă energie, corespunzătoare tranziției $S_0\text{--}S_1$, apare între 404-436 nm (în tabel marcată cu roșu). Cloroformul, solvent aprotic, prezintă un efect batocrom asupra acestei benzi, ceilalți solvenți neavând o influență semnificativă, ceea ce sugerează că tranziția de cea mai joasă energie pentru acești compuși este de tip $n\text{--}\pi^*$. Nu se constată un efect solvatocromic important în funcție de natura substituenților prezenți în moleculă.

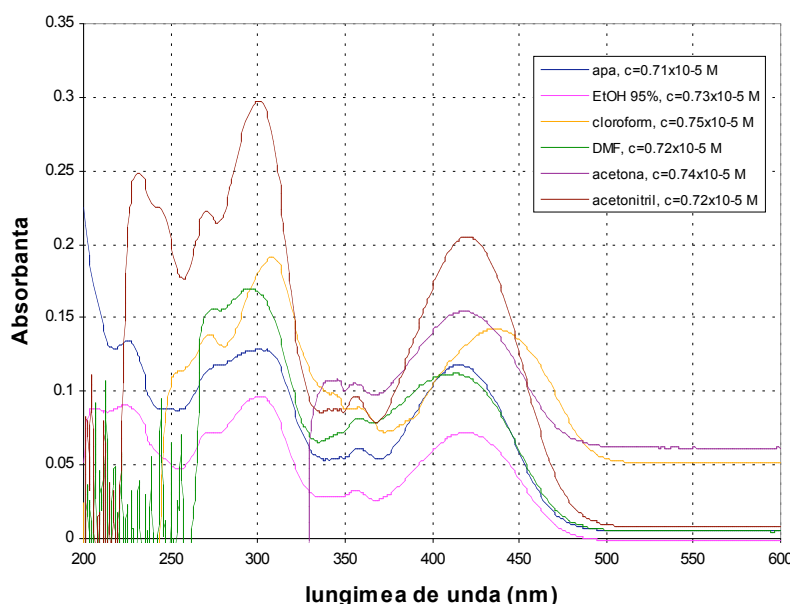


Figura IV.4.2. Spectrele de absorbție ale compusului (12c), în diverși solvenți

Această observație este în concordanță cu literatura de specialitate^(277,278), conform căreia, banda de energie cea mai mică, corespunde în cazul compușilor heterociclici aromatici, tranziției $n\text{--}\pi^*$. De asemenea, prezența grupelor esterice, metoxi și carbonil, ca substituenți ai nucleelor aromatice heterociclice și fenilice, este caracterizată printr-o bandă de energie joasă corespunzătoare tranziției $n\text{--}\pi^*$. Întrucât în cazul compușilor aromatici, energia tranziției $n\text{--}\pi^*$ este apropiată de cea a tranziției $\pi\text{--}\pi^*$, în prezența solvenților protici (apă, alcooli), ce pot forma legături de hidrogen cu heteroatomii, banda de energie cea mai joasă va

corespunde tranziției $\pi-\pi^*$. Totodată, interacțiunea solvenților polari cu electronii neparticipanți ai heteroatomilor (O, N) prezenți în structura heterociclicilor și a grupelor substituente, conduc la o deplasare hipsocromă a maximelor de absorbție.

Banda cea mai intensă ($\epsilon = 24502\text{-}67743 \text{ LM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) apare la lungimi de undă mai mici (281-302 nm). La unii compuși (**12a**, **12c**), în solvenți polari ca apa, acetona, acetonitril, se poate observa conturarea unei noi benzi, de foarte mică intensitate ($\epsilon = 9978\text{-}14211 \text{ LM}^{-1}\text{cm}^{-1}$), centrată la 338-356 nm.

Folosind lungimile de undă ale maximului benzii de absorbție de energia cea mai mică (cu roșu în tabelul IV.4.1.), am realizat înregistrarea spectrelor de fluorescență pentru toate soluțiile menționate mai sus.

În tabelul IV.4.2 sunt reunite datele corespunzătoare lungimilor de undă ale maximului de absorbție la care s-a realizat excitarea ($\lambda_{\text{max, exc}}$), lungimilor de undă ale maximului benzii de emisie ($\lambda_{\text{max, em}}$), și intensitățile corespunzătoare maximului de emisie, exprimate în unități arbitrare, necorectate.

Tabelul IV.4.2. Datele de fluorescență pentru compușii (**12a-d**)

	Solventul					
	H ₂ O	EtOH 95%	CHCl ₃	DMF	Acetonă	CH ₃ CN
(12a)						
Conc. (moli/L)	$0.64 \cdot 10^{-5}$	$0.63 \cdot 10^{-5}$	$0.65 \cdot 10^{-5}$	$0.62 \cdot 10^{-5}$	$0.69 \cdot 10^{-5}$	$0.64 \cdot 10^{-5}$
$\lambda_{\text{max, exc.}}$	404	410	428	408	410	411
$\lambda_{\text{max, em.}}$	534	536	527	538	536	534
I_{F, max} (necorectată)	414	355	23	362	370	453
(12b)						
Conc. (moli/L)	$0.74 \cdot 10^{-5}$	$0.84 \cdot 10^{-5}$	$0.83 \cdot 10^{-5}$	$0.85 \cdot 10^{-5}$	$0.80 \cdot 10^{-5}$	$0.85 \cdot 10^{-5}$
$\lambda_{\text{max, exc.}}$	413	416	432	414	417	417
$\lambda_{\text{max, em.}}$	535	539	529	543	541	539
I_{F, max} (necorectată)	120	437	99	404	397	539
(12c)						
Conc. (moli/L)	$0.71 \cdot 10^{-5}$	$0.73 \cdot 10^{-5}$	$0.75 \cdot 10^{-5}$	$0.72 \cdot 10^{-5}$	$0.74 \cdot 10^{-5}$	$0.72 \cdot 10^{-5}$
$\lambda_{\text{max, exc.}}$	415	418	436	413	418	420
$\lambda_{\text{max, em.}}$	536	540	532	545	542	540
I_{F, max} (necorectată)	219	268	154	291	314	553
(12d)						
Conc. (moli/L)	$0.75 \cdot 10^{-5}$	$0.76 \cdot 10^{-5}$	$0.74 \cdot 10^{-5}$	$0.74 \cdot 10^{-5}$	$0.75 \cdot 10^{-5}$	$0.72 \cdot 10^{-5}$
$\lambda_{\text{max, exc.}}$	419	418	430	419	418	419

$\lambda_{\text{max, em.}}$	519	529	511	542	549	541
$I_{\text{F, max}}$ (necorectată)	2	14	38	7	7	10

După cum se poate observa, maximele curbelor de fluorescență se află în domeniul verde (511-549 nm), forma curbelor de emisie fiind aproximativ aceeași, continuă și nestructurată (figurile IV.4.3 și IV.4.4.).

În figura IV.4.3. sunt prezentate spectrele de emisie în diverși solvenți ale compusului (12a), unul dintre produșii cu cea mai puternică fluorescență.

Din spectrele înregistrate se poate observa că solvenții nu au o mare influență asupra lungimii de undă maxime de emisie, dar exercită o influență mai importantă asupra intensității maximului de fluorescență. Astfel, în concordanță cu literatura de specialitate⁽²⁷⁷⁾, în general, în solvenții protici fluorescența este mai ridicată decât în solvenții aprotici nepolari sau slabi polari, de tipul cloroformului. Totodată, se poate constata o deplasare spre albastru a maximului de fluorescență, în solvenți aprotici (cloroform).

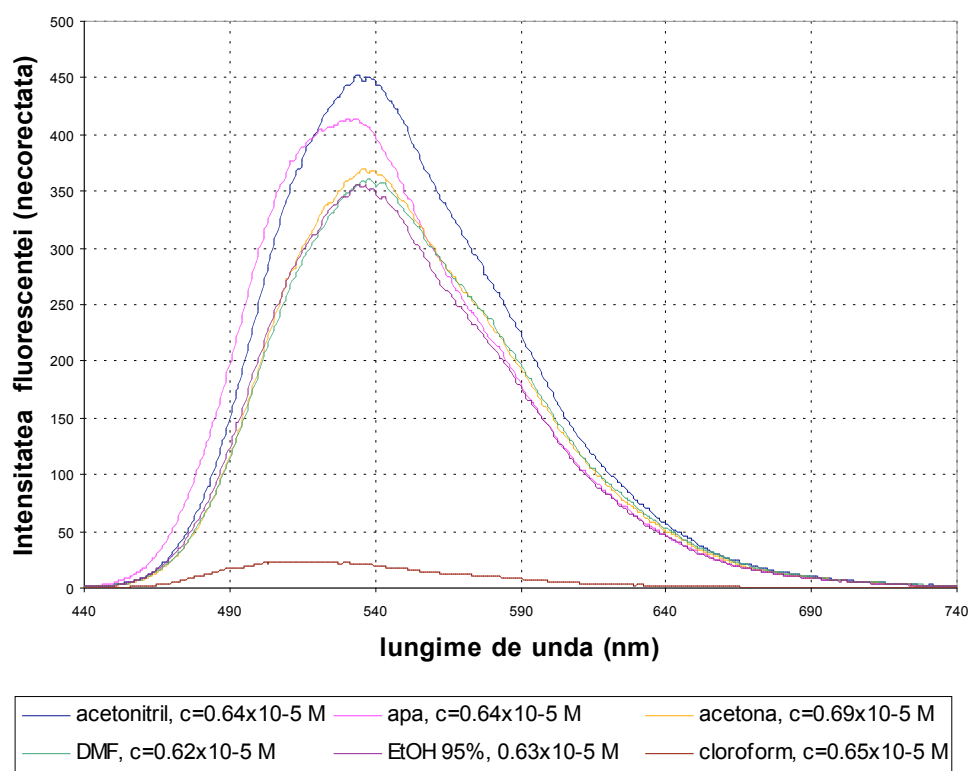


Figura IV.4.3. Influența solvenților asupra spectrelor de emisie ale compusului (12a)

Utilizând spectrele de fluorescență corectate ale compusului (12a), s-a determinat randamentul cuantic al fluorescenței, φ_f , după metoda indicată în literatură⁽²⁷⁹⁾, utilizând drept compus etalon 4-aminoftalimida dizolvată în 1-propanol, pentru care $\varphi_f=0.28$, la 25°C⁽²⁸⁰⁾. În

acest scop, spectrele de fluorescență au fost excitate cu o radiație constantă având $\nu=25000$ cm^{-1} ($\lambda=400\text{nm}$). Randamentul cuantic de fluorescență a fost calculat cu relația (1):

$$\varphi_f^x = \varphi_f^{st} \frac{E^{st}}{E^x} \cdot \frac{\text{Area}(x) n_x^2}{\text{Area}(st) n_{st}^2} \quad (1)$$

unde: E^{st} și E^x sunt absorbțiile corespunzătoare frecvenței de 25000 cm^{-1} , $\text{Area}(st)$ și $\text{Area}(x)$ sunt ariile spectrelor corectate de fluorescență pentru standard și proba de analizat, n_{st} și n_x sunt indicii de refracție ai solvenților utilizați.

Datele obținute pentru randamentele cuantice de fluorescență sunt prezentate în tabelul IV.4.3.

De asemenea, folosind spectrele de absorbție înregistrate pentru același compus în solvenții studiați, s-au determinat: frecvența maximului benzii S_1 ($\nu_{\max}^{S_1}$), coeficientul molar de absorbție maxim pentru aceeași bandă, $\epsilon_{\max}^{S_1}$, tăria oscilatorului f^{S_1} și timpul de viață radiativ τ_0 , ultimele mărimi calculându-se pe baza relațiilor (2) și (3)⁽²⁷⁹⁾:

$$f^{S_1} = \frac{4.39 \cdot 10^{-9}}{n} \int_{S_1} \epsilon_i d\nu \quad (2)$$

$$\tau_0 = 1.52 \frac{1}{n^3 (\nu_{\max}^{S_1})^2 f^{S_1}} (s) \quad (3)$$

unde n reprezintă indicele de refracție al solventului, iar $\int_{S_1} \epsilon_\nu d\nu$ este aria benzii S_1 de absorbție.

Totodată, folosind relația $\tau = \tau_0 \cdot \varphi$, s-a calculat și timpul real al fluorescenței⁽²⁷⁹⁾ toate aceste date fiind prezentate în tabelul IV.4.3.

Tabelul IV.4.3. Caracteristicile spectrale ale compusului (12a) dizolvat în diverși solvenți

Solvent	$\nu_{\max}^{S_1}$ (cm^{-1})	$\epsilon_{\max}^{S_1}$ ($\text{L M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	f^{S_1}	τ_0 (ns)	$\nu_{\max}^{fl}$ (cm^{-1})	φ	τ (ns)
Etanol	23.752	20.582	0,30	3,56	17.940	0,81	2,88
Cloroform	22.703	16.905	0,22	4,36	18.581	0,08	0,35
DMF	24.055	20.855	0,27	3,32	17.845	0,92	3,05
Acetonitril	24.007	20.608	0,29	3,75	17.873	0,98	3,68
Acetonă	25.054	29.594	0,44	2,38	17.905	0,84	2.00

Analiza datelor obținute arată că, deși practic $\varepsilon_{\max}^{S_1}$ nu se modifică, există o creștere importantă a randamentului de fluorescență (φ_f) în etanol, DMF, acetonitril și acetonă și o scădere drastică a acestuia în cloroform. Astfel, putem constata că randamentul cuantic de fluorescență depinde de polaritatea solvenților și de capacitatea de solvatare a componentelor anionice și cationice de către aceștia. Astfel, cloroformul care prezintă cel mai mic moment de dipol (0.1 D) și cea mai mică capacitate de solvatare, va induce cele mai mici randamente cuantice. În același timp, randamente cuantice mai mari vor apărea în solvenții cei mai polari, cu cea mai mare capacitate de solvatare: acetonitril (3.51 D), DMF (3.8 D) și acetonă (2.7 D). Această comportare ar putea fi pusă și pe seama unei conjugări mai puternice a inelelor heterociclice sub acțiunea solvenților polari, și o slăbire a conjugării în cloroform. Totodată, această observație confirmă ipoteza că tranziția de cea mai joasă energie a acestor cicloaducți indoliziniici este $n-\pi^*$, tranziția $\pi-\pi^*$ fiind foarte apropiată ca energie de aceasta și prin urmare în prezența solvenților polari, protici, are loc o inversare a energiilor ceea ce conduce la o fluorescență crescută corespunzătoare unei tranziții $\pi-\pi^*$, în timp ce în solvenții aprotici (cloroform) fluorescența corespunde unei stări excitate $n-\pi^*$, fiind mai slabă⁽²⁷⁷⁾.

În continuare, ținând cont de rezultatele deja obținute pentru cicloaducții (**12a-d**), în vederea determinării influenței substituenților prezenți în pozițiile 1 și 3 ale inelului indolizinic, asupra fluorescenței cicloaducților indoliziniici, s-au înregistrat și spectrele de absorbție și de emisie ale derivaților indoliziniici (**15a, c**) și (**16a, c**), dizolvați în apă. Concentrațiile soluțiilor de lucru au fost păstrate în același domeniu de valori ($\sim 0.7 \times 10^{-5}$ moli/L) ca și pentru soluțiile produșilor (**12a-d**), înregistrarea spectrelor realizându-se tot la temperatura camerei, în aceleași condiții ca și mai înainte.

Spectrele înregistrate prezintă o structură continuă, asemănătoare cu cele ale compușilor (**12a-d**), prezentate anterior. În spectrele de absorbție maximul benzii de cea mai mică energie apare tot în regiunea violet (404-423 nm), în timp ce maximul benzii de emisie este situat tot în domeniul galben-verde al spectrului (514-536 nm) (Figura IV.4.4.).

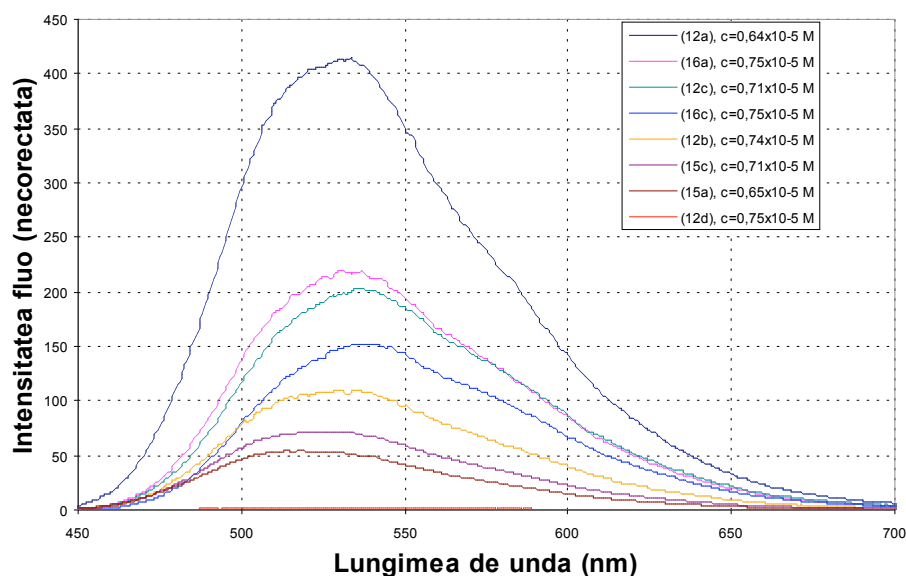


Figura IV.4.4. Spectrele de emisie ale cicloaducților indolizinici dizolvați în apă

Utilizând ca standard pentru corectarea spectrelor de fluorescență, 4-aminofthalimida dizolvată în 1-propanol, la o radiație de excitare de 25000 cm^{-1} , precum și spectrele de absorbție înregistrate, s-au calculat folosind relațiile (1), (2) și (3), prezentate anterior, câteva caracteristici spectrale ale compușilor studiați dizolvați în apă. Datele obținute sunt prezentate în tabelul IV.4.4.

Tabelul IV.4.4. Caracteristici spectrale ale cicloaducților indolizinici dizolvați în apă: frecvența maximului benzii S_1 de absorbție, $\nu_{\max}^{S_1}$, coeficientul molar de absorbție pentru maximul benzii S_1 , $\epsilon_{\max}^{S_1}$, tăria oscilatorului și timpul de viață radiativ, f^{S_1} , τ_0 , pentru aceeași bandă, randamentul cuantic al fluorescenței, φ , timpul de viață real τ și deplasările Stokes.

Compus	$\nu_{\max}^{S_1}$ (cm^{-1})	$\epsilon_{\max}^{S_1}$ ($\text{L M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)	f^{S_1}	τ_0 (ns)	$\nu_{\max}^f$ (cm^{-1})	φ	τ (ns)	Deplasarea Stokes, $\Delta\tilde{\nu}$ (cm^{-1})
(12a)	24.230	27.062	0,40	2,75	18.212	0,55	1,51	6018
(16a)	23.885	13.300	0,19	5,96	18.092	0,38	2,26	5434
(12c)	23.664	16.595	0,23	5,02	18.230	0,28	1,41	5793
(16c)	23.276	10.750	0,16	7,46	17.932	0,20	1,49	5344
(12b)	23.822	21.220	0,31	3,67	18.304	0,12	0,44	5518
(15c)	24.008	13.302	0,20	5,61	18.427	0,10	0,56	5581
(15a)	24.573	8.294	0,11	9,73	18.635	0,10	0,97	5938
(12d)	23.608	20.112	0,29	4,00	18.689	0,02	0,08	4919

Cea mai puternică fluorescență precum și cele mai mari valori ale $\lambda_{\text{max}}^{S_1}$ și f^{S_1} au fost înregistrate pentru compusul (**12a**), urmat de corespondentul său amidic (**16a**). Cele mai slabe caracteristici absorbante și de fluorescență le prezintă derivații 1-(4-nitro-fenoxi-carbonil) substituiți (**15a, c**).

Prin urmare, în ceea ce privește influența substituenților asupra fluorescenței produșilor studiați, putem concluziona, că prezența pe nucleul fenilic a substituenților donori de electroni, ca metoxi, provoacă o deplasare batocromă a spectrelor de fluorescență, iar intensitatea de fluorescență este mai ridicată. Din contră substituenții electronoacceptori, ca nitro, deși provoacă de asemenea o deplasare batocromă a spectrelor de fluorescență, au un efect de „quenching” de fluorescență, ducând la diminuarea φ_f , în toți compușii unde sunt prezenți (**12d, 15a** și **15c**) precum și la scăderea caracteristicilor absorbante, în cazul compușilor (**15a, c**). Totodată prezența în pozițiile 1 și/sau 3 ale nucleului indolizinic a substituenților esterici, COOC_2H_5 și COOCH_3 conduce la randamente de fluorescență ridicate și deplasări ușor hipsocrome ale maximului benzii de emisie. Datele observate sunt în concordanță cu literatura de specialitate^(276, 277).

În toate cazurile analizate, compararea spectrelor de absorbție la lungimi de undă mari cu spectrele de fluorescență, ne-a determinat să presupunem că există o simetrie între prima bandă de absorbție (S_1) și spectrul de fluorescență.

De asemenea, datorită faptului că benzile de absorbție cât și cele de fluorescență ale tuturor compușilor studiați sunt benzi continue, fără structură, rezultă că moleculele respective au structuri neplanare atât în starea fundamentală cât și în starea excitată.

IV.4.2. L'influence de pH sur la fluorescence des cycloadduits indoliziniques

Având în vedere informațiile existente în literatură⁽²⁷⁷⁾ legate de influența pH-ului mediului asupra fluorescenței compușilor organici, în special la compușii heterociclici cu azot, am abordat studierea fluorescenței compușilor piridiniu-indolizinici sintetizați, la diferite valori de pH.

Ținând cont de rezultatele obținute anterior, în cercetările asupra fluorescenței, și de obiectivul propus de a studia interacțiunea cicloaducților indolizinici cu ADN-ul, din punct de vedere al fluorescenței, am ales ca substanțe pentru prezentul studiu,

cicloaducții (**12a**, **c**) și (**16a**) care s-au dovedit a prezenta cele mai interesante proprietăți fluorescente.

Pentru a studia influența pH-ului, s-au preparat soluții tampon BRITTON-ROBINSON⁽²⁸¹⁾ (x mL NaOH 0.2M la 100 mL soluție stoc: 0.04 M CH₃COOH, 0.04 M H₃PO₄ și 0.04 M acid boric), corespunzătoare valorilor de pH: 1.98, 5.02, 7, 9.62, 11.82.

Compușii studiați, au fost dizolvați în apă și introduși în soluțiile tampon corespunzătoare, concentrația finală a soluțiilor de analizat, fiind $\sim 0.7 \times 10^{-5}$ M.

Cu soluțiile astfel preparate, lucrând la temperatura camerei, în aceleași condiții cu cele aplicate anterior, s-au înregistrat spectrele de absorbție și de emisie.

În tabelul IV.4.5. sunt prezentate valorile maximelor de absorbție și de emisie, deplasările Stokes și intensitatea fluorescenței (în unități arbitrare) cicloaducțiilor indolizininici la diferite valori ale pH-ului.

Tabelul IV.4.5. Caracteristicile spectrale ale compușilor (**12a**), (**12c**), (**16a**), la diferite valori de pH

Compus	pH	$\lambda_{\max, \text{abs}} (\text{nm}) / \epsilon (\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1})$	$\lambda_{\max, \text{em}} (\text{nm})$	$\Delta\tilde{\nu} (\text{cm}^{-1})$	I _F (necorectată)
(12a)	1.98	405/19213	530	5824	391
	5.02	405/15541	533	5930	295
	7	405/15014	528	5752	298
	9.62	405/11865	530	5824	224
	11.82	422/6866	556	6706	34
(12c)	1.98	414/20944	538	5567	219
	5.02	416/16000	533	5277	190
	7	415/16018	534	5370	189
	9.62	414/17192	536	5498	194
	11.82	419/4575	530	4999	55
(16a)	1.98	409/20624	536	5793	274
	5.02	412/15309	536	5615	219
	7	412/14613	535	5580	208
	9.62	411/21973	538	5743	164
	11.82	424/15553	550	5403	54

Alura spectrelor de absorbție astfel înregistrate este continuă, asemănătoare cu cea înregistrată pentru compușii respectivi în apă, cu maximul benzii de energie cea mai mică, în regiunea violet la 405-424 nm. De remarcat este deplasarea batocromă a maximului benzii de absorbție însoțită de o diminuare a absorbției, la pH bazic puternic.

Spectrele de fluorescență sunt de asemenea continue, cu un singur maxim, situat pentru toate soluțiile în regiunea verde a spectrului, 528-556 nm (figura IV.4.5.).

În cazul compușilor (**12a**) și (**16a**) se poate remarca o deplasare batocromă importantă, a maximului benzii de emisie în mediu bazic puternic (pH 11.82). De asemenea, se observă o scădere a fluorescenței compușilor analizați odată cu creșterea pH-ului mediului, până la o stingere aproape totală a acestuia în soluții puternic bazice.

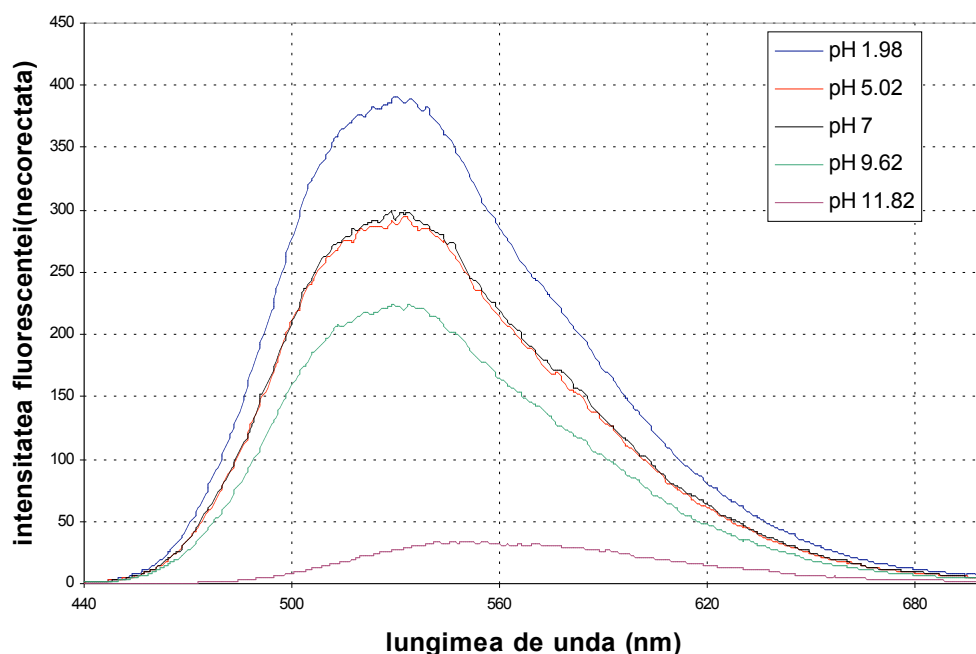
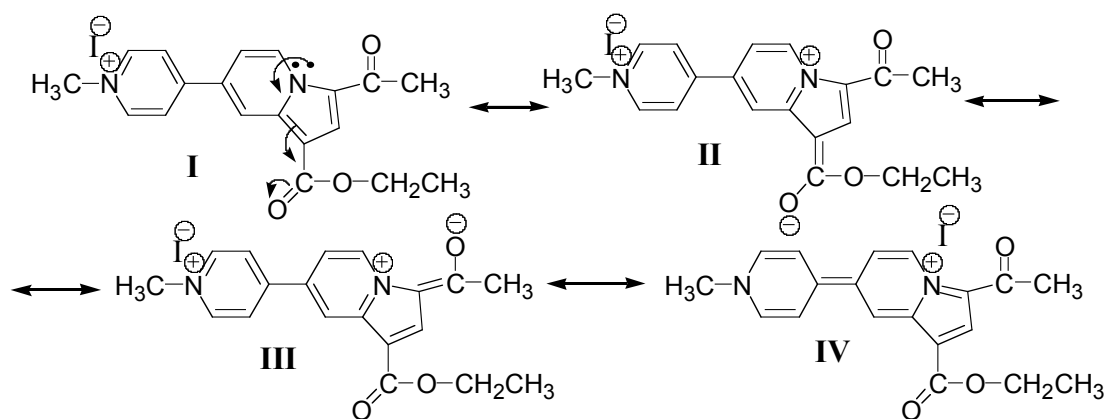


Figura IV.4.5. Spectrele de emisie ale compusului (**12a**) la diferite valori de pH

Scăderea fluorescenței compusului (**12a**) odată cu creșterea bazicității mediului poate fi explicată printr-o deviere mai accentuată de la coplanaritate datorită slabei solvătări a cationului, care este un acid slab, de către o bază dură cum este anionul hidroxid (HO^-), în apă. În cazul restului N-metil-piridiniu, anionul I^- , fiind o bază slabă, printr-un fenomen analog solvătării, menține sarcina pozitivă de pe atomul de azot metilat, permițând o implicare mai accentuată a electronilor neparticipanți ai azotului indolizinic într-o conjugare p- π . În acest context pot fi luate în considerare următoarele structuri limită:



O participare mai mare a structurilor limită **II** și **III** determină o coplanaritate mai avansată a grupărilor esterice cu ciclul indolizinic. Structura limită **IV** are o pondere mai mică datorită deranjamentelor sterice induse de volumul mare al anionului I^- și rotațiilor libere ale celor două grupări esterice.

Odată cu creșterea bazicității mediului scad contribuțiile structurilor **II** și **III**, care au caracter de acizi moi, datorită slabei solvătări a acestora de către baza dură și crește ponderea structurii **IV** în care contraionul I^- este înlocuit treptat prin ioni hidroxid (HO^-). Această înlocuire este totală în mediu bazic puternic ($pH=11.82$) deoarece structura limită **IV** are un caracter acid mai dur fiind mai solvatată de ionii hidroxid. Această interpretare explică și deplasarea batocromă a maximumului fluorescenței, deoarece structura limită **IV** prezintă cea mai extinsă conjugare, implicând ciclurile indolizinic și piridinic. De asemenea, creșterea ponderii structurii limită **IV** conduce la atenuarea fluorescenței datorită necoplanarității celor două grupări esterice cu ciclul indolizinic.

IV.4.3. L'étude de l'interaction des cycloadduits indoliziniques avec l'ADN

Literatura de specialitate arată că, utilizarea marcajului cu fluorofori are numeroase aplicații în biologie și medicină, spre exemplu pentru investigarea transformărilor conformaționale la interfața proteinelor sau pentru determinarea cantitativă a proteinelor în lichidele biologice, precum și în investigarea modului de acțiune al medicamentelor *in vitro*⁽²⁸²⁾.

Modificările spectrale observate la legarea fluoroforilor cu proteine sau acizi nucleici constituie un instrument important pentru investigarea topologiei punctelor de legare, transformările conformaționale și caracterizarea substratului la legarea unui ligand.

Dintre fluoroforii utilizați cu succes în aceste scopuri, putem menționa: bromura de etidiu, eosina B și eozina Y, roșu de bromcrezol, albastru brilliant coomasie, nano orange și fluoresceina⁽²⁸³⁻²⁸⁵⁾.

Ținând cont de structura de dublă elice a ADN-ului, în cazul interacțiunii acestuia cu moleculele organice mici (medicamente, fluorofori), includerea acestora se poate realiza un mecanism de intercalare („intercalative binding”) sau electrostatic („groove binding”)– figura IV.4.6⁽²⁸⁶⁾.

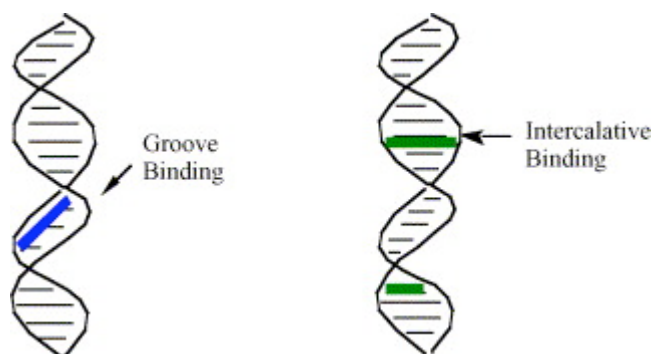


Figura IV.4.6. Două din modurile de legare uzuale ale moleculelor mici de ADN

În acest context, modul de legare al unui ligand este influențat de caracteristicile geometrice, sterice și electrostatice ale acestuia. Astfel, legarea prin intercalare este frecvent întâlnită în cazul sistemelor aromatice și heterociclice cu molecule plane, în timp ce interacția electrostatică poate apărea în cazul prezenței unor funcțiuni cationice și a unor catene laterale.

Studiile spectroscopice (de absorbție și fluorescență) pot oferi informații importante privind modul de legare al acizilor nucleici de fluoroforii sau medicamentele respective⁽²⁸⁶⁾.

Având în vedere obiectivul propus de a crea noi markeri fluorescenți pentru sistemele biologice, am realizat în continuare un studiu prin spectroscopie de fluorescență al interacțiunii cicloaducților piridiniu-indolizininici sintetizați cu ADN-ul din timus de vacă.

În acest scop, am utilizat metoda titrării fluorimetrice a produșilor fluorescenți cu ADN. Astfel, au fost înregistrate spectrele de fluorescență ale unor probe în care concentrația de produs indolizinic a fost menținută constantă ($0.6-0.7 \times 10^{-5}$ moli/L) în timp ce a fost crescută concentrația de ADN, în condițiile menținerii unui volum

constant (1000 μ L) al probei de analizat. Din punct de vedere practic acest lucru s-a realizat prin amestecarea unui volum constant de soluție mămă a produsului de analizat, preparată în apă ultrapură, cu un volum crescător dintr-o soluție concentrată de ADN, urmată de aducerea la volum constant. S-au obținut în acest fel probe, cu rapoarte molare ADN:indolizina bine determinate.

Pentru probele astfel pregătite s-au înregistrat în prealabil spectrele de absorbție. De asemenea, concentrațiile soluțiilor de ADN utilizate au fost determinate tot prin spectroscopie de absorbție, utilizând coeficientul molar de absorbție al acestuia ($\epsilon_{259\text{nm}}=5000\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Spectrele de emisie au fost înregistrate în urma excitării probelor la lungimea de undă a maximului benzii de absorbție de cea mai mică energie, la care absorbția produsului este independentă de spectrul de absorbție al ADN-ului. Pentru înregistrarea spectrului de fluorescență, s-a lucrat cu lărgimea benzii fantei de excitare de 5 nm și respectiv cu o lărgime a benzii fantei de emisie de 2.5 nm.

Într-o primă etapă, a fost investigată prin titrare fluorimetrică, interacțiunea ADN-ului cu cicloaducții indolizini (12a-d). Primele determinări s-au realizat, utilizând ca solvent apă bidistilată, fără a impune condiții de menținere a pH-ului și în absența electroliților.

În tabelul IV.4.6. sunt prezentate câteva caracteristici ale spectrelor de absorbție și emisie (lungimile de undă ale maximelor, intensitatea relativă de fluorescență = raportul dintre intensitatea maximului de fluorescență pentru fiecare raport molar ADN:indolizina și intensitatea maximului de fluorescență în absența ADN-ului).

Tabelul IV.4.6. Date spectrale pentru titrarea cicloaducțiilor (12a-d) cu ADN

r.m. ADN:I	$\lambda_{\text{max.abs}} \text{ (nm)} / \lambda_{\text{max.em}} \text{ (nm)}$				$I_{\text{Fmax}}/I_{\text{Fmax}}^0$			
	(12a)	(12b)	(12c)	(12d)	(12a)	(12b)	(12c)	(12d)
0	405/531	413/534	416/536	419/534	1	1	1	1
1	406/532	415/532	421/532	419/546	0,792	0,837	0,289	0,326
2	407/530	415/531	426/536	422/554	0,469	0,743	0,088	0,291
5	411/533	419/531	427/534	425/535	0,195	0,433	0,074	0,144
10	417/534	420/532	430/536	428/500	0,173	0,137	0,067	0,133
50	420/531	428/529	434/537	432/507	0,116	0,077	0,034	0,143
100	422/531	427/527	431/530	432/506	0,072	0,05	0,034	0,143

Din datele obținute în spectrele de absorbție se poate observa o deplasare spre roșu ($\Delta\lambda=13\text{-}17\text{ nm}$) a maximului benzii de absorbție din vizibil, odată cu creșterea cantității de ADN, ceea ce conform literaturii de specialitate⁽²⁸⁷⁾ poate constitui un

prim indiciu asupra intercalării fluoroforilor în lanțul de ADN, între perechile de baze. Cea mai puternică deplasare se constată în cazul compusului **(12a)** care datorită volumului mai redus al substituenților, și a coplanarității mai avansate a moleculei datorate conjugărilor extinse între heterociclu și substituenți, se poate intercala mai ușor la nivelul inelului indolizinic.

Curbele de titrare, obținute prin reprezentarea grafică a intensității relative de fluorescență în funcție de raportul molar ADN:indolizină (ADN:I) sunt reprezentate în figura IV.4.7.

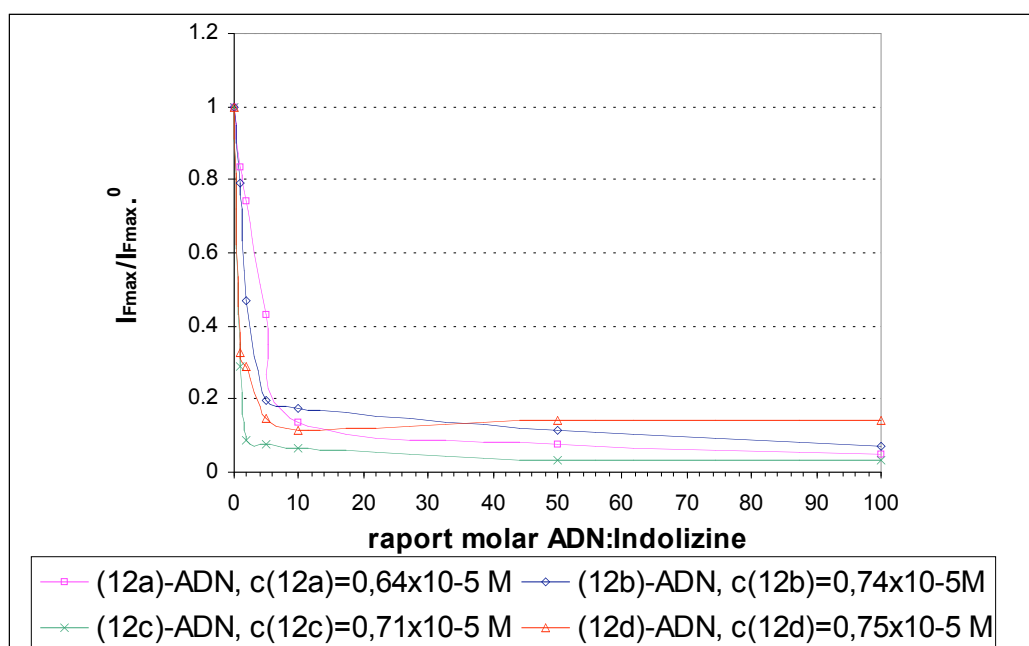


Figura IV.4.7. Curbele de titrare cicloaducți indolizinici –ADN

Analiza curbelor de titrare pune în evidență o puternică interacțiune între ADN și fluoroforii studiați, care se manifestă printr-o stingere a fluorescenței, ce atinge maximum la aproximativ 10 echivalenți p.b. (perechi de baze) ADN. Se poate observa că cea mai mare afinitate pentru ADN o prezintă indolizina **(12c)**, pentru care stingerea aproape completă a fluorescenței poate fi observată la 2 echivalenți p.b. de ADN.

Având în vedere rezultatele anterioare obținute la investigarea influenței pH-ului asupra fluorescenței cicloaducților indolizinici și ținând cont că în prezența ADN-ului are loc o acidifierea a mediului, putem concluziona că stingerea fluorescenței observată nu se datorează scăderii pH-ului. În orice caz, pentru a evita eventuala influență a pH-ului mediului asupra rezultatelor de fluorescență, cercetările ulterioare

s-au efectuat lucrând la pH=7.6, în prezența unei soluții tampon TRIS (tris-hidroximetil-aminometan), introdusă în probele de analizat în concentrație de 10^{-2} M.

În continuare s-a încercat clarificarea modului de interacțiune al cicloadductelor indolizininice cu ADN-ul, prin investigarea influenței tăriei ionice asupra spectrelor de absorbție și de emisie ale fluoroforilor indolizininici în prezența unei cantități determinate de ADN.

În acest scop, s-au înregistrat comparativ, spectrele de absorbție și de emisie ale unor amestecuri de cicloadduct indolizininici și ADN cu un raport molar ADN:indolizinină=5:1, la pH=7.6, în prezența unor concentrații diferite de NaCl (20mM, 100mM și 1M). Spectrele obținute au fost comparate cu cele înregistrate pentru același raport molar ADN:indolizinină în absența electrolitului (NaCl) și respectiv cu cele înregistrate în absența ADN-ului, pentru aceeași concentrație de fluorofor și fără adaos de electrolit.

Literatura de specialitate^(286,287) arată că, creșterea tăriei ionice are ca efect o micșorare a repulsiilor fosfat-fosfat, ceea ce conduce la contracția dublei elice. Astfel, se ajunge în final la o contracție a helixului, ceea ce va avea un efect negativ asupra interacțiunii liganzilor cu ADN-ul. Prin urmare, odată cu creșterea tăriei ionice, are loc o scădere atât a interacțiunilor electrostatice dintre liganzii cationici și ADN, cât și a intercalărilor liganzilor în lanțul de ADN. Cele două moduri de interacțiune nu sunt afectate în aceeași măsură de creșterea tăriei ionice.

Analiza spectrelor de absorbție înregistrate în cazul cicloadductului indolizinic (**12a**), în condițiile menționate mai sus (Figura IV.4.8.) arată o ușoară deplasare spre roșu a maximului benzii de absorbție de la lungimi de undă mari, la micșorarea tăriei ionice, precum și un ușor hipocromism. Odată cu creșterea tăriei ionice, interacțiunea ADN-fluorofor scade, spectrul devenind asemănător cu cel înregistrat în absența ADN-ului, la concentrații de 1M NaCl, interacțiunea fiind practic complet anulată.

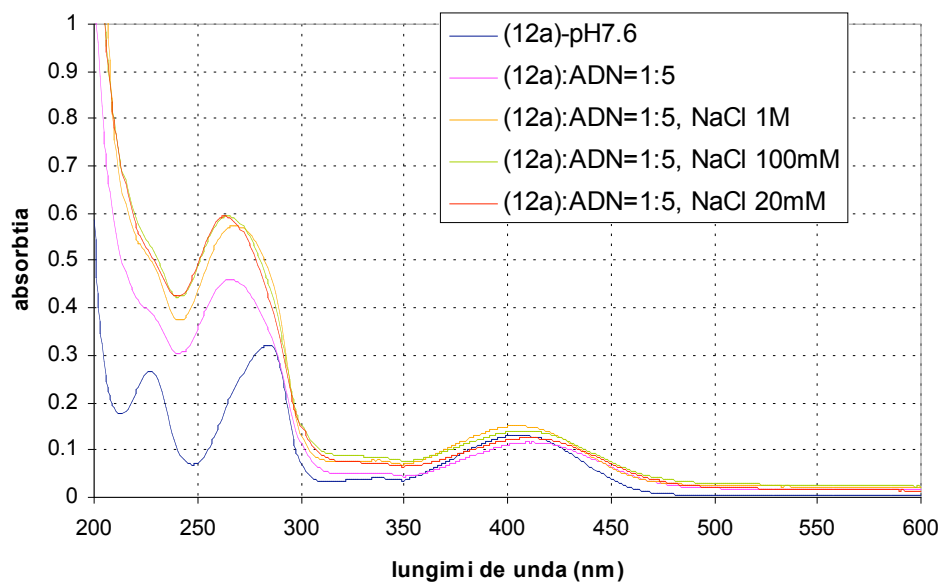


Figura IV.4.8. Influența tăriei ionice asupra spectrelor de absorbție ale soluțiilor (12a)-ADN.

În cazul spectrelor de fluorescență, înregistrate pentru aceleași soluții (Figura IV.4.9.), în urma excitării la maximul de absorbție cel mai slab energetic, se observă o creștere a intensității fluorescenței odată cu creșterea tăriei ionice, la concentrații de NaCl 1M, fluorescența devenind comparabilă cu cea înregistrată în absența ADN-ului. Nu se observă însă, nici o deplasare semnificativă a lungimii de undă a maximului de absorbție. Prin urmare, creșterea tăriei ionice are ca efect micșorarea interacțiunii dintre fluorofor și ADN, ceea ce poate conduce la presupunerea că interacțiunea electrostatică la nivelul grupei piridiniu cationice, este mai importantă decât cea de intercalare a restului indolizinic.

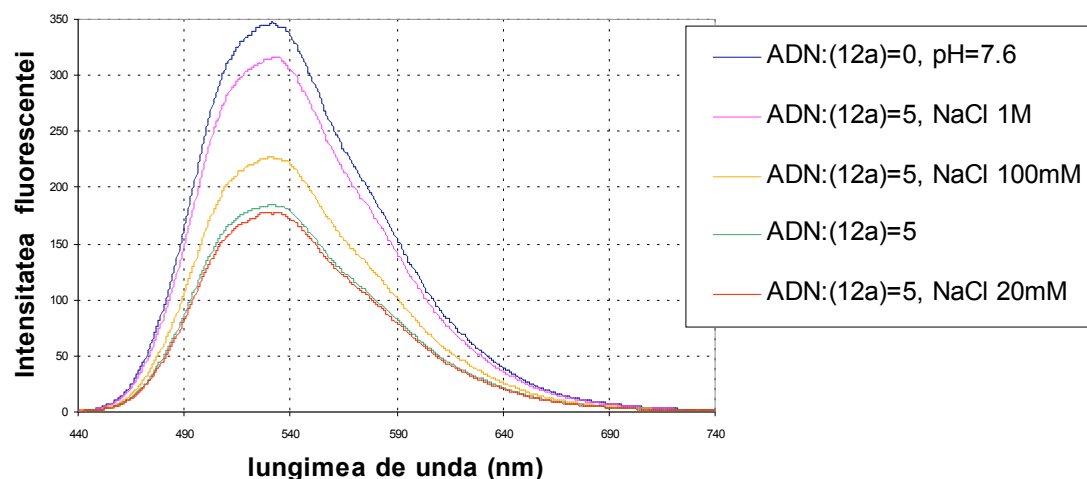


Figura IV.4.9. Spectre de fluorescență la diferite tări ionice, în cazul interacțiunii **(12a)**-ADN

Rezultate identice s-au obținut și la investigarea efectului tăriei ionice asupra interacțiunii ADN cu cicloaducți de tipul **(16a,c)**.

Având în vedere rezultatele obținute la investigarea influenței tăriei ionice și a pH-ului asupra măsurătorilor de fluorescență ale cicloaducților indoliziniici și ținând cont de intenția de a propune acești compuși ca markeri fluorescenți pentru analizele biologice, în continuare, am realizat un studiu asupra interacției cicloaducților **(12a)** și **(16a,c)** cu ADN-ul, în condiții fiziologice de analiză (pH=7.6 – tampon Tris, NaCl 100mM, în mediu apos).

În acest scop s-au înregistrat spectrele de emisie pentru probe cu diferite rapoarte molare ADN:indolizină, la concentrații constante de fluorofor și volume constante, lungimile de undă de excitare fiind determinate din spectrele de absorbție ale aceluiași eșantioane.

În figura IV.4.10. sunt prezentate spectrele de fluorescență înregistrate în cazul compusului **(16a)**, la diferite concentrații de ADN, în condiții fiziologice. După cum se poate vedea, se constată și în aceste condiții, o stingere („quenching”) a fluorescenței, la creșterea concentrației de ADN în probele de analizat, ceea ce indică o puternică interacțiune între fluoroforul indolizinic și acidul nucleic.

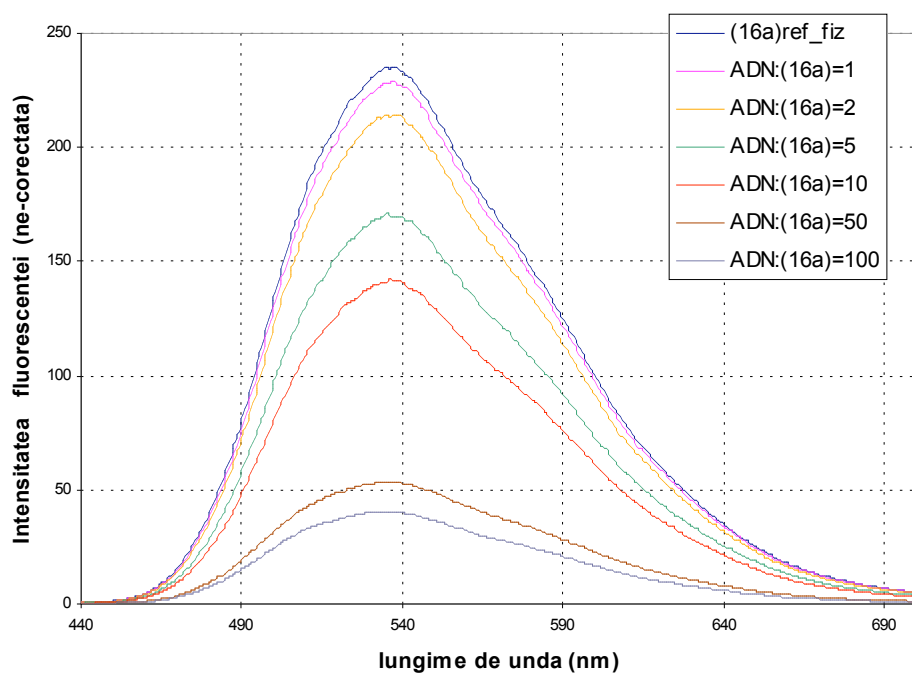


Figura IV.4.10. Spectre de fluorescență – titrare (16a)-ADN, condiții fiziologice

Curbele de titrare (intensitatea relativă a fluorescenței față de raportul molar ADN:indolizina) ale compușilor **(12a)** și **(16a,c)**, prezentate în figura IV.4.11., arată o descreștere exponențială a intensității fluorescenței cu creșterea concentrației de ADN.

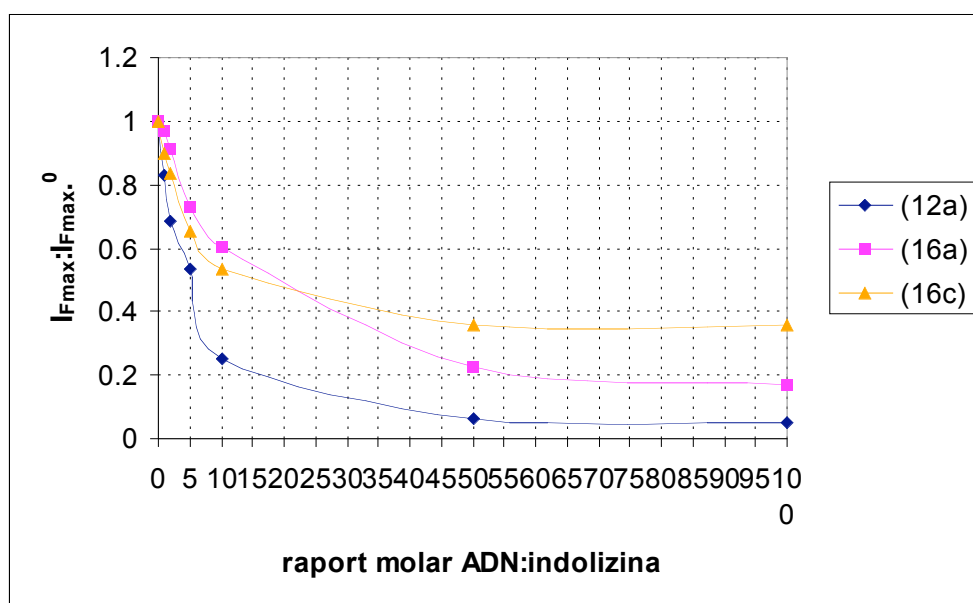


Figura IV.4.11. Curbe de titrare ADN:indolizine, condiții fiziologice

Extincția fluorescenței este totală la aproximativ 10 echivalenți p.b. ADN, dintre moleculele studiate în aceste condiții, cea mai puternică afinitate fiind prezentată de molecula **(12a)**, pentru care scăderea de fluorescență este cea mai pronunțată.

În final, în urma studiilor efectuate putem concluziona că cicloaducții indoliziniici sintetizați, de tipul **(12a-d)** și **(16a-d)**, prezintă interesante proprietăți fluorescente, dependente atât de factori externi (solvenți, pH) cât și de factori interni (natura substituenților). Totodată, în prezența ADN-ului fluoroforii menționați prezintă o puternică stingere a fluorescenței, odată cu creșterea raportului molar ADN:fluorofor. Acest lucru indică existența unei interacțiuni între cicloaducții indoliziniici și ADN, a cărei natură nu a fost complet elucidată. Această interacțiune se manifestă și în condiții fiziologice de analiză și prin urmare putem propune utilizarea compușilor respectivi ca markeri fluorescenți în diferite analize biochimice și biologice.

Pe de altă parte, studiile efectuate asupra cicloaducțiilor din seria **(15a-d)**, arată că aceștia prezintă o foarte slabă fluorescență, datorită restului 4-nitro-fenoxicarbonil, și de aceea nu prezintă interes pentru spectrometria de fluorescență ci doar un interes sintetic, ca intermediari pentru funcționalizarea ulterioară a nucleului indolizinic.

IV.5. L'ÉTUDE DES PROPRIÉTÉS ANTIOXYDANTES DES CYCLOADDUITS INDOLIZINIQUES

Des recherches récentes ont montré que les indolizines sont des antioxydants très actifs qui peuvent inhiber la peroxydation des lipides *in vitro*^(39,43,288). Les études ont montré que pour observer une activité antioxydante la présence d'un atome d'oxygène sur le carbone C-1 du noyau indolizine est nécessaire, mais l'activité antioxydante peut apparaître aussi dans le cas de substituants oxygénés, de type éthers, esters, sulfonates, carbonates et carbamates, dans cette même position.

Dans cette thèse nous avons étudié l'activité antioxydante *in vitro* des cycloadduits pyridinium-indoliziniques, de type **(12a-d)** sur les huiles végétales, en émulsion.

Les déterminations ont été réalisées sur une huile de tournesol, l'activité antioxydante de la pyridinium-monoindolizine **(12b)** (**II**) étant comparée avec celle d'une bisindolizine (**III**), avec des substituants similaires, antérieurement synthétisée par notre groupe, et aussi avec celle des autres antioxydants connus, naturels et de synthèse, utilisés dans l'industrie alimentaire, le propyl-galate (**IV**) et le β -carotène (**V**). L'activité antioxydante des composés étudiés a été appréciée par comparaison avec un échantillon témoin (**I**), ne contenant que l'huile.

La peroxydation des lipides a été suivie en mesurant la valeur de l'indice de peroxyde (I.P.) et du degré d'insaturation (I.N.).

Les études ont été réalisées dans des conditions d'autooxydation extrêmes, à 120°C, sous un courant d'air de 2L/h, chaque échantillon étant testé après 30, 60 et 120 minutes.

Pour tous les échantillons on constate une diminution de l'indice d'insaturation dans le temps en même temps qu'une augmentation de l'indice de peroxyde dans les étapes du début d'oxydation.

Les résultats obtenus montrent une bonne activité antioxydante des indolizines comparée à celle du β -carotène et une activité satisfaisante comparée à celle du propyl-galate. Dans les premières étapes du processus, la bisindolizine étudiée montre des propriétés antioxydantes plus élevées que celles de la mono-indolizine, mais au cours de temps la bisindolizine perd plus rapidement sa capacité antioxydante.

Compușii cu proprietăți antioxidante sau de captori de radicali liberi, prezintă o importanță deosebită, atât datorită utilizării lor pentru protecția antioxidantă a alimentelor cât și datorită potențialului terapeutic ridicat, radicalii liberi fiind implicați în numeroase boli majore (cancer, Parkinson, Alzheimer, artrită reumatoidă, etc.).

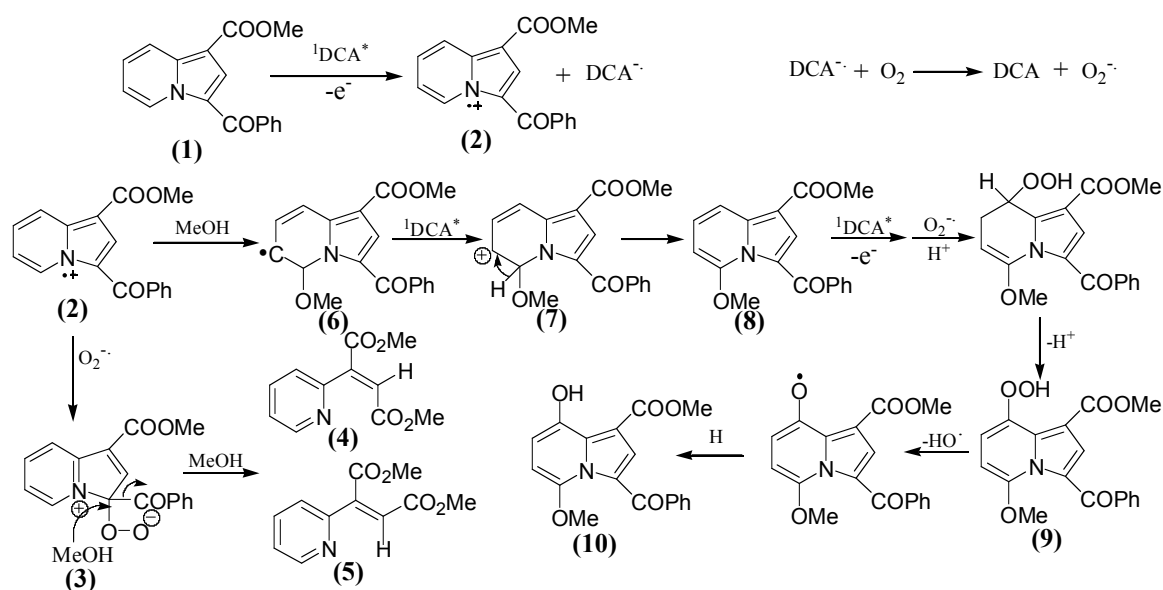
Literatura de specialitate arată că, unii derivați indoliziniici sunt ușor susceptibili la acțiunea oxigenului, fiind ușor oxidați prin expunere la lumină și aer, cu formare de radicali liberi stabili^(39, 48, 175). Având în vedere acestea, cercetări recente au arătat că indolizinele sunt antioxidanți foarte activi ce pot inhiba peroxidarea lipidelor *in vitro*^(39,43,288). Astfel, s-a arătat că indolizinele pot fi potențiali inhibitori ai 15-lipooxigenazei din uleiul de soia precum și din reticulocitele iepurilor⁽⁴³⁾.

Studiile au arătat că pentru manifestarea unei activități antioxidante este necesară prezența unui atom de oxigen legat la C-1 al nucleului indolizinic, dar activitatea antioxidantă poate apărea și în cazul prezenței unor substituenți cu oxigen, de tipul eteri, ester, sulfonați, carbonați și carbamați, în poziția respectivă⁽⁴³⁾.

Activitatea antioxidantă a indolizinelor se manifestă probabil printr-un mecanism donor de electroni⁽³⁹⁾. Li și colab.⁽⁴⁸⁾ au arătat că 1-carbometoxi-3-benzoil-indolizina (**1**) poate reacționa cu oxigenul singlet, în prezența 9,10-diciano-antracenului (DCA), ca sensibilizator, cu formarea inițială a unui radical-cation (**2**) printr-un transfer de electroni. Radicalul-cation format poate reacționa cu anionul radical superoxid pe două căi, în prezența metanolului ca solvent (Schema IV.5.1).

Astfel, pe de o parte, radical anionul superoxid ($O_2^{\cdot-}$) se poate fixa la nivelul atomului C-3, conducând la formarea unui „zwitterion” (**3**), care după reacția cu metanolul urmată de homoliza legăturii O-O, conduce la dimetil-2-(2-piridinil)maleat (**4**) și dimetil-2-(2-piridinil)fumarat (**5**), în raport molar 97:3.

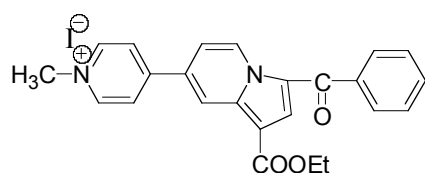
Pe de altă parte, o altă posibilitate de evoluție a reacției, presupune atacul metanolului la C-5, urmată de oxidarea radicalului (**6**) format la carbocationul (**7**), din care prin pierderea unui proton se formează indolizina (**8**). Transferul ulterior de electroni între indolizina (**8**) și $^1DCA^*$ urmat de recombinarea $(8)^+ \cdot O_2^{\cdot-}$ și de pierderea unui proton conduce la hidroperoxidul (**9**), din care în final prin homoliza legăturii O-O se formează 1-carbometoxi-3-benzoil-5-metoxi-8-hidroxi-indolizina (**10**).



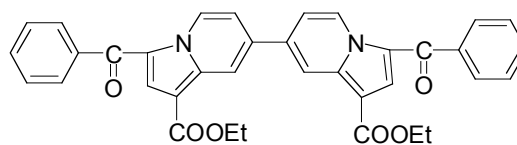
Schema IV.5.1. Mecanismul fotooxidării 1-carbometoxi-3-benzoil-indolizinei (**1**)

Având în vedere informațiile găsite în literatură și ținând cont de structura cicloadducților indoliziniici sintetizați de noi, care este asemănătoare cu cea a indolizinelor prezentate de literatură ca potențiali antioxidanți, în prezenta teză de doctorat am investigat activitatea antioxidantă *in vitro* a cicloadducților piridiniu-indoliziniici, de tipul (**12a-d**) asupra uleiurilor vegetale, în emulsie.

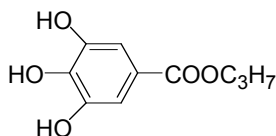
Pentru acest studiu, s-a ales ca reprezentant al seriei, cicloadductul (**12b**), a cărui sinteză și caracterizare structurală a fost prezentată în paragraful III.2.1. Determinările s-au realizat asupra unui ulei de floarea soarelui, activitatea antioxidantă a piridiniu-monoindolizinei (**12b**) (proba **II**) fiind comparată cu cea a unei bisindolizine (proba **III**), cu substituenți similari, anterior sintetizată de grupul nostru⁽³⁵⁾, precum și cu cea a altor antioxidanți cunoscuți, naturali și de sinteză, utilizați în industria alimentară, propil-galatul (proba **IV**) și β -carotenul (proba **V**). Activitatea antioxidantă a compuşilor investigați a fost apreciată comparativ cu o probă de control (proba **I**), conținând numai ulei.



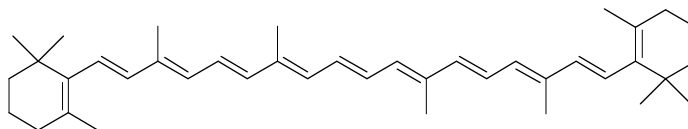
(12b)- proba II



bisindolizina - proba III



propil galat - proba IV



β-caroten - proba V

În vederea determinării indicatorilor chimici ai degradării oxidative a alimentelor bogate în grăsimi nesaturate (autooxidare, peroxidare, râncezire, etc.) cercetările experimentale s-au efectuat după metode standard. Astfel, peroxidarea lipidelor a fost determinată prin măsurarea valorilor indicelui de peroxid (I.P.) și a gradului de nesaturare (I.N.).

Urmărirea variației conținutului de acizi grași nesaturați este importantă pentru aprecierea cineticii autooxidării și degradării lor în timpul procesării și depozitării alimentelor. Gradul de nesaturare al lipidelor a fost stabilit prin determinarea indicelui de nesaturare sau a indicelui de iod (I.N.), prin metoda Hannus⁽²⁸⁹⁾ (vezi partea experimentală).

Formarea peroxizilor în timpul peroxidării lipidelor a fost exprimată prin indicele de peroxid (I.P.), folosind reacția cu KI urmată de titrarea cu Na₂S₂O₃⁽²⁸⁹⁾ (partea experimentală).

Studiile au fost realizate în condiții de autooxidare extreme, la 120°C, sub barbotare de aer cu un debit de 2L/h, fiecare probă fiind investigată după 30, 60, 120 minute.

Evoluția peroxidării a fost apreciată cu ajutorul formulelor:

$$\text{I.N.} = \frac{12,691(V - V_1)}{m_p} [\text{g I}_2 / 100 \text{ g ulei}] \quad (1)$$

unde: 12,691 reprezintă coeficientul de transformare a Na₂S₂O₃ exact N/10 în g I₂ din 100 g grăsime, V-mL Na₂S₂O₃N/10 (pentru o probă în alb), V₁-mL Na₂S₂O₃N/10(pentru proba de analizat), m_p- grame ulei.

$$\text{I.P.} = \frac{(V_p - V_a)}{m_p} [\text{mL Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ N/500} / \text{g lipide}] \quad (2)$$

unde: V_p-mL Na₂S₂O₃N/500 (pntru proba de analizat); V_a-mL Na₂S₂O₃N/500 (pentru o probă în alb), m_p- grame ulei.

Rezultatele experimentale obținute sunt prezentate în tabelul IV.5.1.

Tabelul IV.5.1. Activitatea inhibitorie a indolizinelor comparativ cu propil-galatul și β -carotenul, exprimată în indici de peroxid (I.P.) și de nesaturare (I.N.)

Proba	I.P. Valoare				I.N. Valoare		
	0'	30'	60'	120'	30'	60'	120'
I	1.3	18.7	48.5	115.7	205,6	48,2	27,9
II	0.65	6.9	13.5	73.5	154.32	146.70	133.0
III	0.6	3	10.5	83,2	327,4	205,6	65,7
IV	1.7	1,4	4,5	18,3	342,6	271,6	190,4
V	1.9	3,9	17,6	113,3	243,7	81,2	50,8

Pentru toate probele investigate se constată o descreștere a indicelui de nesaturare în timp. De asemenea se constată că indicele de peroxid crește în stadiile incipiente de oxidare (figura IV.5.1).

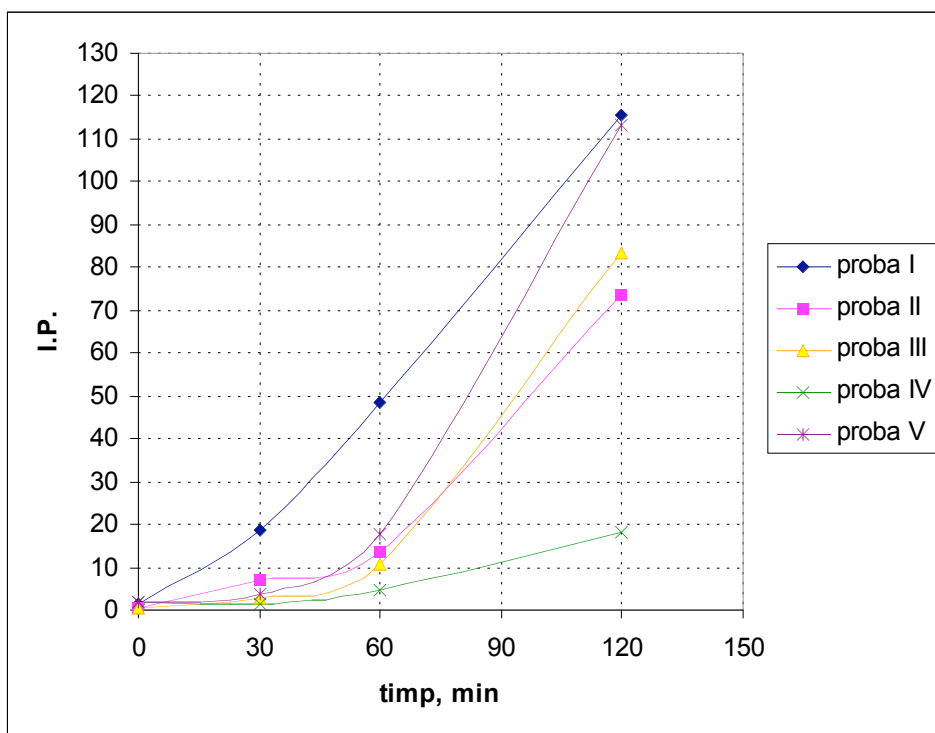


Figura IV.5.1. Variația în timp a indicelui de peroxid (I.P.)

Indicele de nesaturare scade cu creșterea indicelui de peroxid, cea mai importantă scădere a I.N având loc la hidrogenare și în timpul oxidării, rânțezirii și tratamentelor termochimice severe a grăsimilor. Toate speciile peroxidice lipidice: hidroperoxizi, epidioxizi, peroxizi etc., participă la diverse reacții de stabilizare conducând la: micșorarea indicelui de nesaturare (IN), creșterea indicelui de peroxid

(IP), modificări fundamentale ale proprietăților organoleptice și nutriționale. Aceste reacții afectează în mod deosebit grăsimile, cu atât mai mult, cu cât crește *gradul de nesaturare*, procesul fiind accelerat de creșterea temperaturii.

Din datele obținute se poate observa și faptul că produșii indolizinei determină o încetinire a procesului de peroxidare.

În concluzie, am examinat posibila activitate inhibitorie asupra peroxidării *in vitro* a lipidelor în cazul unei piridiniu-indolizine și a unei bis-indolizine comparativ cu alți antioxidanți consacrați. Rezultatele obținute arată o activitate antioxidantă bună a indolizinelor comparativ cu β -carotenul și satisfăcătoare în comparație cu activitatea antioxidantă a propil-galatului. În stadiile incipiente ale procesului, bisindolizina studiată prezintă proprietăți antioxidante mai puternice decât cele ale piridiniu-monoindolizinei, dar odată cu trecerea timpului bisindolizina își pierde mai repede capacitatea antioxidantă.

V. PARTIE EXPÉRIMENTALE

În vederea sintetizării compușilor intermediari și finali, s-au utilizat reactivi și solvenți procurați de la firmele de specialitate (Aldrich, Merck, Fluka și firme autohtone). Solvenții au fost uscați conform metodelor standard⁽²⁹⁰⁾ și în anumite cazuri distilați înainte de utilizare.

Purificarea compușilor sintetizați s-a realizat prin extracții sau prin cromatografie pe coloană (silica gel 60, Aldrich).

Monitorizarea reacțiilor și verificarea purității compușilor sintetizați s-a efectuat prin cromatografie în strat subțire și cromatografie de lichide de înalta performanță (HPLC). Analizele prin cromatografie în strat subțire au fost realizate pe plăci de silicagel 60F₂₅₄ Merck de 0,25mm grosime, cu detecție UV la 254 și 365nm. Pentru analizele HPLC s-a utilizat un aparat Waters echipat cu două pompe M510m un injector universal U6Km, un programator de gradient M680, detector UV Waters cu bară de diodă și coloană analitică în fază inversă Waters μ -bondapack C₁₈ (3,9 x 300 mm², porozitate 10 μ m), folosindu-se doi eluenți A (H₂O, pH 2,5 – acid fosforic) și B (MeOH/H₂O: 95/5, v/v) cu un gradient de 0 la 100% de B în 5 minute și apoi 100% de B timp de 5 minute și un debit de 2 mL/min.

Temperaturile de topire au fost măsurate cu un aparat de determinare microscopică a punctului de topire Reichert Thermovar echipat cu un transformator de reglaj Reichert-Jung și cu un aparat de măsurare electronică Electrothermal . Valorile temperaturilor de topire sunt necorectate.

Spectrele de rezonanță magnetică nucleară (RMN) au fost înregistrate pe spectrometre Bruker AC200 și Avance 300. Deplasările chimice (δ) sunt exprimate în ppm în raport cu picul solventului considerat ca referință internă (DMSO-d₆: 2,50 ppm; CDCl₃: 7,26 ppm; D₂O: 4,79 ppm). Constantele de cuplaj (J) sunt exprimate în Herti. Spectrele ¹³C-RMN au fost înregistrate utilizând secvența de impuls C13mult, de tip INADEQUAT, care permite obținerea atât a deplasărilor chimice cât și natura nucleului de carbon (primar, secundar, terțiar și cuaternar).

Spectrele IR au fost înregistrate în stare cristalină, cu un aparat Magna-IR Spectrometer 350, utilizând tehnica Atenuării Reflexiei Totale (ATR – *Attenuator Total Reflectance*).

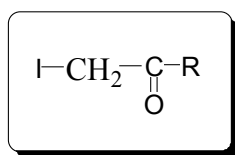
Spectrele de masă (SM) au fost înregistrate pe un aparat POLARISQ Thermo Finnigan și tratate cu un program X Calibur.

Spectrele de absorbție electronică (UV-VIS) au fost realizate pe un spectrofotometru Perkin-Elmer 15 UV/Vis.

Spectrele de fluorescență au fost înregistrate pe un spectrometru de fluorescență Perkin-Elmer LS50.

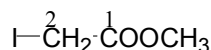
Microanaliza elementală (C, H, N) a fost realizată la Serviciul de microanaliză al laboratorului L.E.D.S.S - Universitatea „Joseph Fourier”, Grenoble, Franța.

V.1. Procédé général pour la synthèse des dérivés iodurés réactifs (2 a-d)



Les réactifs iodés, iodo-méthyl-acétate (**2a**) et α -iodo-acétophenones (**2b-d**) ont été synthétisés en traitant 30 mmol de dérivés bromés (**1a-d**), dissous dans 30 mL d'acétone anhydre, avec 42 mmol (excès 40%) de NaI dissous dans 30 mL d'acétone anhydre. Le mélange réactionnel est agité 30 minutes à la température ambiante, le précipité blanc de NaBr formé étant après éliminé par filtration. Le filtrat résultant est soumis à l'évaporation du solvant, le résidu brut huileux obtenu étant repris avec du chloroforme. L'excès de bromure de sodium est encore éliminé par filtration, le filtrat est récupéré et le solvant évaporé, conduisant à l'obtention des dérivés iodés, suffisamment purs pour l'utilisation dans les étapes suivantes.

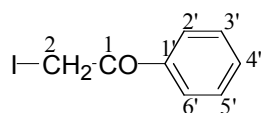
La synthèse du iodo-méthyl-acétate (2a)



Se obține conform procedeului general din brom-acetat de metil (5.17 g; 33.8 mmoli) și iodură de sodiu (7.1 g; 47.32 mmoli). Lichid lacrimogen, slab galben, care în contact cu aerul devine roșiatic. M=200 g/mol, η = 90%.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm= 3.76 (s, 3H: OCH_3), 3.70 (s, 2H: H-2).

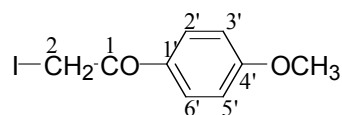
La synthèse de 2-iodo-acétophenone (2b)



Se sintetizează conform procedeului general din ω -brom-acetofenonă (6 g; 30 mmoli) și iodură de sodiu (6.32 g; 42.1 mmoli). Cristale galben-roșiatice, cu punct de topire foarte scăzut. $M = 246$ g/mol, $\eta = 99\%$.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.96-7.99 (m, 2H: H-2', H-6'), 7.58 (t, $J = 7.39$ Hz, 1H: H-4'), 7.47 (t, $J = 7.44$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 4.35 (s, 2H: H-2)

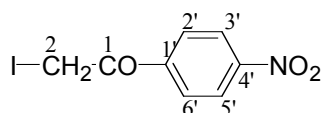
La synthèse de 2-iodo-4'-méthoxy-acétophenone (2c)



Se obține după procedeul general din 2g (8.73 mmoli) 2-brom-4'-metoxi-acetofenonă și 1.83 g (12.2 mmoli) iodură de sodiu. Cristale alb-gălbui cu punct de topire scăzut. $M = 276$ g/mol, $\eta = 96\%$.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm = 7.94 (d, $J = 9.04$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 6.92 (d, $J = 9.04$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 4.29 (s, 2H: H-2), 3.85 (s, 3H: OCH_3).

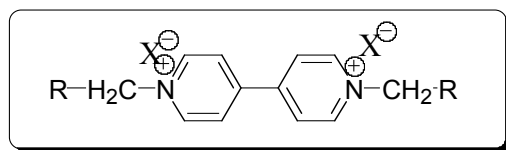
La synthèse de 2-iodo-4'-nitro-acétophenone (2d)



Se obține conform procedeului general din 2-bromo-4'-nitro-acetofenonă (5 g, 20.5 mmoli) și 4.3 g (28.6 mmoli) iodură de sodiu. Produsul final pur se obține după spălarea cu apă fierbinte (80 mL) a cristalelor obținute după evaporarea cloroformului. Cristale galben-bej cu punct de topire scăzut. $M = 291$ g/mol, $\eta = 93\%$.

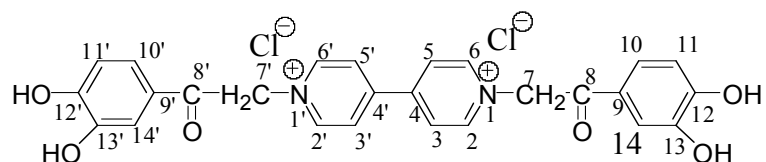
$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ ppm = 8.34 (d, $J = 9.05$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.15 (d, $J = 9.05$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 4.39 (s, 2H: H-2).

V.2 Procédé général pour la synthèse des sels diquaternaires symétriques de 4,4'-bipyridinium (5, 7)



On dissout à l'ébullition 1 mmole de bipyridine dans 5 mL d'acétonitrile anhydre. Dans la solution obtenue on rajoute 2.2 mmoles (excès 10%) de dérivé halogéné. Le mélange réactionnel est mis à reflux, sous agitation énergique, pendant 6-10 h; le produit précipité est séparé par filtration sous vide, lavé plusieurs fois avec l'acétonitrile bouillant et l'éther éthylique puis séché sous vide. Les produits obtenus ont un degré de pureté suffisamment élevé, mais ils peuvent être purifiés par recristallisation dans les solvants appropriés.

La synthèse de dichlorure de N,N'-di(3,4-dihydroxy-phenacyl)-4,4'-bipyridinium (5)

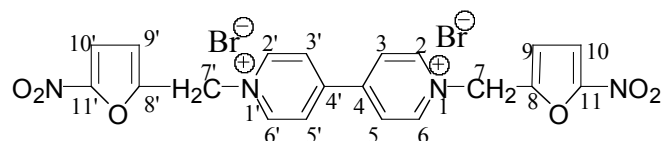


Se obține după procedeul general din 0.5 g (3.2 mmoli) 4,4'-bipiridil și 1.32 g (7 mmoli) 2-cloro-3',4'-dihidroxi-acetofenonă. Cristale gri cu punct de topire 302-303°C. M= 529 g/mol, η =70%.

¹H RMN (300MHz, DMSO-*d*₆+TFA) δ ppm= 9.29-9.23 (m; 4H: 4H_O); 8.85 (d; J=6.92 Hz; 4H: H-2, H-6, H-2', H-6'); 8.68 (d, J=6.92 Hz; 4H: H-3, H-5, H-3', H-5'); 7.57-7.52 (m; 4H: H-11, H-14, H-11', H-14'); 7.03(d, J=8.19 Hz, 2H: H-10, H-10'); 6.47 (s; 4H: 2H-7, 2H-7').

Pentru C₂₆H₂₂Cl₂N₂O₆ (529,38) Calculat: C 58.99; H 4.19; N 5.29; Găsit: C 58.60; H 4.02; N 5.61.

La synthèse de dibromure de N,N'-di(4'-nitrofuran)-4,4'-bipyridinium (7)

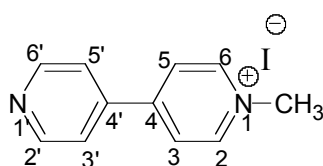


Se obține după același procedeu general din 0.5 g (3.2 mmoli) 4,4'-bipiridil și 1.45 g (7 mmoli) 2-bromometil-5-nitro-furan. Cristale bej cu punct de topire 255-256°C. $M=568$ g/mol, $\eta=95\%$.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6+\text{TFA}$) δ ppm= 9.51 (d; $J=6.96$ Hz; 4H: H-2, H-6, H-2', H-6'); 8.84 (d; $J=6.96$ Hz; 4H: H-3, H-5, H-3', H-5'); 7.74 (d; $J=3.79$ Hz; 2H: H-10, H-10'); 7.26 (d; $J=3.79$ Hz; 2H: H-9, H-9'); 6.22 (s, 4H: 2H-7, 2H-7').

Pentru $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_6$ (568.17) Calculat: C 42.28; H 2.84; N 9.86; Găsit: C 42.50; H 2.57; N 9.58.

V.3. La synthèse de l'iodure de 1-méthyl-4(4-pyridyl)-pyridinium (8)



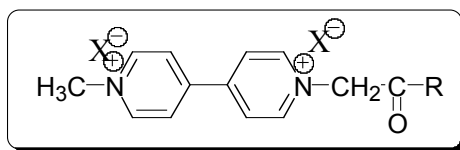
On dissout 1g (6.4mmoles) de bipyridine dans 10mL d'acétone et on rajoute 0.87g (6.1mmoles; 0,38mL) d'iodure de méthyle, sous agitation. On agite à température ambiante pendant 10 heures. On filtre les cristaux formés, on les lave avec acétone et éther éthylique et on les sèche sous vide. Le sel **(8)** s'obtient sous forme des cristaux jaunes, avec point de fusion 254-255°C. $M=298$ g/mol, $\eta=60\%$.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm= 9.15 (d, $J=6.85$ Hz, 2H: H-2, H-6), 8.86 (dd, $J=4.46, 1.70$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.62 (d, $J=6.85$ Hz, 2H: H-3, H-5), 8.04 (dd, $J=4.47, 1.71$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 4.40 (s, 3H: N^+CH_3).

$^{13}\text{Cmult RMN}$ (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm= 151.85 (Cquat); 151.00 (2CH); 146.13 (2CH); 140.82 (Cquat); 124.94 (2CH); 121.84 (2CH); 47.60 (CH_3 : N^+CH_3).

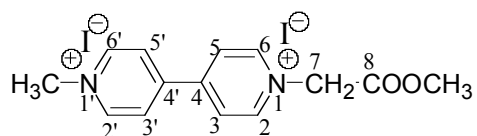
SM (DCI, $\text{NH}_3/\text{izobutan}$): $M=298$ g/mol, $M^+=171$ g/mol; $m/z(\%)$: 157 [$M^++1-\text{CH}_3$, 100]; 126.8 [I^- , 100]. **SM (ESI):** $M=298$ g/mol, $M^+=171$ g/mol; m/z (q): 298.9 [$M+\text{H}^+$, (+1), $1.25\cdot 10^5$]; 283 [$M-\text{CH}_3$, (+1), $0.15\cdot 10^5$]; 468.9 [$2M^++\text{I}^-$, (+1), $2.4\cdot 10^5$].

V.4. Procédé général pour la synthèse des sels diquaternaires non symétriques de 4,4'-bipyridinium (9 a-d)



1mmole d'iodure de N-méthyl-4(4-pyridyl)-pyridinium (**8**) est dissoute à l'ébullition de l'acétonitrile (10 mL) et est traitée avec 1.50 mmoles (excès 50%) de dérivés iodés (**2 a-d**). On chauffe au reflux pendant 15-20 heures et après on filtre le précipité formé. Les cristaux formés sont lavés avec l'acétonitrile chaud et séchés sous vide, à la température ambiante. Le rendement de la méthode est de 88-98%.

La synthèse du diiodure de N-méthyl-N'-carbométhoxy-méthyl-4,4'-bipyridinium (9a)



Se obține conform procedeului general din 0.5 g (1.6 mmoli) sare (**8**) și 0.49 g (2.45 mmoli) iodo-metil-acetat. Cristale roșii-cărămizii cu punct de topire >350°C (cu descompunere). M= 498 g/mol, η =88%.

¹H RMN (300 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 9.33-9.29 (m, 4H: H-2, H-6, H-2', H-6'), 8.87 (d, J = 6.98 Hz, 2H: H-3, H-5), 8.78 (d, J = 6.82 Hz, 2H: H-3', H-5'), 5.77 (s, 2H: H-7), 4.46 (s, 3H: N⁺CH₃), 3.82 (s, 3H: OCH₃).

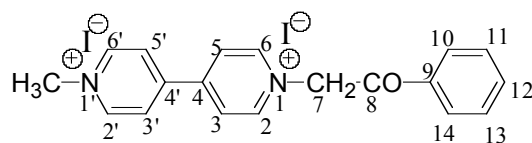
¹³Cmult RMN (75 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 166.46 (Cquat: C=O); 149.57 (Cquat); 147.86 (Cquat); 147.04 (2CH); 146.47 (2CH); 126.15 (2CH); 60.14 (CH₂); 53.17 (CH₃: OCH₃); 47.94 (CH₃: N⁺CH₃).

IR (ATR, cm⁻¹): 3080, 3027 (CH_{arom.}); 2949, 2907, 2838 (CH_{alif.}); 1740 (C=O_{ester}); 1635 (C=N); 1553, 1517, 1503 (C=C_{arom.}); 1234, 1207 (C-O-C); 1126 (C-N).

SM (DCI, NH₃/izobutan): M=498g/mol, M²⁺=244g/mol; m/z (%): 157[bipy⁺+1; 100]; 173[(M²⁺-CH₂COOCH₃)⁺+2; 9]; 126.9 [I⁻;100]. **SM (ESI):** M=498g/mol, M²⁺=244g/mol; m/z (q): 243 [M²⁺-H⁺;(+1); 0.9·10⁶].

Pentru C₁₄H₁₆I₂N₂O₂ (498.10) Calculat: C 33.76, H 3.24, N 5.63; Găsit: C 34.15, H 3.33, N 5.26.

La synthèse du diiodure de N-méthyl-N'-phenacyl-4,4'-bipyridinium (9b)



Se sintetizează după procedeul general din 0.5 g (1.67 mmoli) iodură de N-metil-4(4-piridil)-piridiniu (**8**) și 0.61 g (2.47 mmoli) 2-iodo-acetofenonă (**2b**). Cristale roșii-portocalii cu punct de topire 248-250°C. M= 544 g/mol, η= 89%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm= 9.32 (d, J = 6.86 Hz, 2H: H-2', H-6'), 9.27 (d, J = 7.07 Hz, 2H: H-2, H-6), 8.89 (d, J = 7.04 Hz, 2H: H-3, H-5), 8.79 (d, J = 6.87 Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.12-8.09 (m, 2H: H-10, H-14), 7.83 (t, J = 7.48 Hz, 1H: H-12), 7.70 (t, J = 7.50 Hz, 2H: H-11, H-13), 6.57 (s, 2H: H-7), 4.46 (s, 3H: N⁺CH₃).

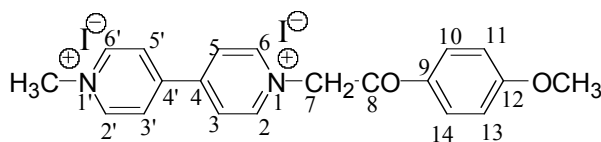
¹³Cmult RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 190.21 (Cquat: C=O); 149.23 (Cquat); 148.07 (Cquat); 147.06 (2CH); 146.49 (CH); 134.47 (2CH); 133.32 (Cquat); 129.07 (2CH); 128.15 (2CH); 126.24 (2CH); 126.12 (2CH); 66.18 (CH₂); 47.95 (CH₃:N⁺CH₃).

IR (ATR, cm⁻¹): 3004 (CH_{arom.}); 2958 (CH_{alif.}); 1691 (C=O); 1637 (C=N); 1593, 1557, 1504, 1450 (C=C_{arom.}); 1181 (C-N).

SM (DCI, NH₃/izobutan): M=544g/mol, M²⁺=290g/mol; m/z (%): 157[bipy⁺+1; 100]; 126.8 [I⁻;100]. SM (ESI): M=544g/mol, M²⁺=290g/mol; m/z (q): 289 [M²⁺-H⁺; (+1); 1.78·10⁶].

Pentru C₁₉H₁₈I₂N₂O (544.17) Calculat: C 41.94, H 3.34, N 5.15; Găsit: C 41.85, H 3.23, N 5.13.

La synthèse du diiodure de N-méthyl-N'-(para-metoxi-phenacyl)-4,4'-bipyridinium (9c)



Se obține conform procedurii general din 0.5 g (1.67 mmoli) sare monocuaternară (**8**) și 0.69 g (2.5 mmoli) 2-iodo-4'-metoxi-acetofenonă (**2c**). Cristale roșii-portocalii cu punct de topire 260-262°C. M= 574 g/mol, η= 98%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 9.32 (d, J = 6.92 Hz, 2H: H-2', H-6'), 9.27 (d, J = 7.05 Hz, 2H: H-2, H-6), 8.89 (d, J = 7.01 Hz, 2H: H-3, H-5), 8.80 (d, J =

6.95 Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.08 (d, $J = 8.93$ Hz, 2H: H-10, H-14), 7.21 (d, $J = 8.96$ Hz, 2H: H-11, H-13), 6.51 (s, 2H: H-7), 4.46 (s, 3H: N^+CH_3), 3.92 (s, 3H: OCH_3).

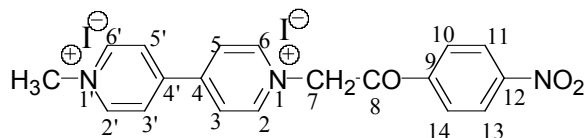
$^{13}\text{Cmult RMN}$ (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 188.42 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$); 164.24 (Cquat); 149.11 (2Cquat); 148.06 (Cquat); 147.06 (2CH); 146.49 (2CH); 130.64 (2CH); 126.17 (2CH); 126.11 (2CH); 114.35 (2CH); 65.83 (CH_2); 55.73 (CH_3 : OCH_3); 47.94 (CH_3 : N^+CH_3).

IR (ATR, cm^{-1}): 3004 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$); 2958, 2835 (CH_{alif}); 1674 ($\text{C}=\text{O}$); 1636 ($\text{C}=\text{N}$); 1599, 1571, 1556, 1505 ($\text{C}=\text{C}_{\text{arom.}}$); 1247, 1230, 1028 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$); 1170 ($\text{C}-\text{N}$).

SM (DCI, $\text{NH}_3/\text{izobutan}$): $M=574\text{g/mol}$, $M^{2+}=320\text{g/mol}$; m/z (%): 155[bipy $^{+}$ -1; 100]; 157[bipy $^{+}$ +1; 40]; 171[(M^{2+} - $\text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$) $^{+}$; 55]; 126.8 [I^- ;100]. **SM (ESI):** $M=574\text{g/mol}$, $M^{2+}=320\text{g/mol}$; $m/z(q)$: 185[M^{2+} - $\text{COC}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$; (+1); $5 \cdot 10^6$]; 319 [M^{2+} - H^+ ; (+1); $3 \cdot 10^6$]; 172[M^{2+} +1- $\text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_4\text{OCH}_3$; (+1), $0.6 \cdot 10^6$].

Pentru $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{I}_2\text{N}_2\text{O}_2$ (574.20) Calculat: C 41.84, H 3.52, N 4.88; Găsit: C 41.87, H 3.45, N 4.80.

La synthèse de diiodure de N-méthyl-N'-(para-nitro-phenacyl)-4,4'-bipyridinium (9d)



Se obține după procedeul general din 0.3 g (1mmoli) iodură de N-metil-4,4'-bipiridiniu (**8**) și 0.42 g (1.44 mmoli) 2-iodo-4'-nitro-acetofenonă (**2d**). Cristale roșii cu punct de topire 235-236°C. $M=589\text{ g/mol}$, $\eta=88\%$.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 9.33 (d, $J = 6.87$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 9.27 (d, $J = 7.05$ Hz, 2H: H-2, H-6), 8.92 (d, $J = 7.02$ Hz, 2H: H-3, H-5), 8.80 (d, $J = 6.88$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.51 (d, $J = 8.92$ Hz, 2H: H-11, H-13), 8.33 (d, $J = 8.96$ Hz, 2H: H-10, H-14), 6.63 (s, 2H: H-7), 4.47 (s, 3H: N^+CH_3).

$^{13}\text{Cmult RMN}$ (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 189.67 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$); 150.55 (Cquat); 149.39 (Cquat); 148.02 (Cquat); 147.04 (2CH); 146.51 (2CH); 138.04 (Cquat); 129.68 (2CH); 126.32 (2CH); 126.13 (2CH); 124.08 (2CH); 66.40 (CH_2); 47.95 (CH_3 : N^+CH_3).

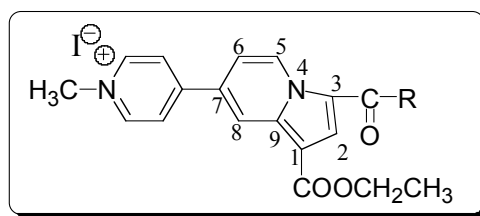
IR (ATR, cm^{-1}): 3004 ($\text{CH}_{\text{arom.}}$); 2858, 2877 ($\text{CH}_{\text{alif.}}$); 1698 (C=O); 1636 (C=N); 1601, 1556, 1504 ($\text{C=C}_{\text{arom.}}$); 1527, 1341 (NO_2); 1223 (C-C); 1199-1181 (C-N).

SM (DCI, $\text{NH}_3/\text{izobutan}$): $M=589\text{g/mol}$, $M^{2+}=335\text{g/mol}$; m/z (%): 157[bipy $^{+1}$; 100]; 126.8 [I^- ;100]. **SM (ESI):** $M=589\text{g/mol}$, $M^{2+}=335\text{g/mol}$; $m/z(q)$: 334 [$M^{2+}-\text{H}^+$; (+1); $9\cdot 10^6$]; 171 [$M^{2+}-\text{CH}_2\text{COC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$; (+1); 10^6]; 288 [$M^{2+}-\text{NO}_2$; (+1); $2.8\cdot 10^5$]; 184 [$M^{2+}-\text{COC}_6\text{H}_4\text{NO}_2$; (+1); $1.6\cdot 10^5$]; 157[bipy $^{+1}$; 0.7 $\cdot 10^5$].

Pentru $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{I}_2\text{N}_3\text{O}_3$ (589.17) Calculat: C 38.74, H 2.91, N 7.14; Găsit: C 38.68, H 2.95, N 7.14.

V.5. Procédé général pour la synthèse des cycloadduits monoindoliziniques

(12 a-d) utilisant comme dipolarophile le propiolate d'éthyle



On suspend 1 mmole de sel diquaternaire (**9a-d**) et 1.40 mmoles de propiolate d'éthyle dans la N-méthylpyrrolidinone (10 mL). Dans la suspension obtenue on rajoute, goutte à goutte, sous agitation énergique, 2 mmoles de triéthylamine (diluée dans 3 mL de N-méthyl-pyrrolidinone). Le mélange réactionnel est chauffé, à 50-60°C, pendant 6-9 heures. Le produit (**12a-d**) est alors précipité avec l'acétate d'éthyle. Le précipité obtenu se sépare par filtration et est lavé, sur le filtre, avec l'acétate d'éthyle et l'éther éthylique. Pour la purification, le produit brut est suspendu dans l'eau distillé et extrait avec le chloroforme. La phase organique est séparée, séchée sur Na_2SO_4 anhydre et est concentrée par évaporation sous vide. Les composés (**12a-d**) sont obtenus sous forme des cristaux jaunes, par précipitation avec éther éthylique, filtration et séchage sous vide.

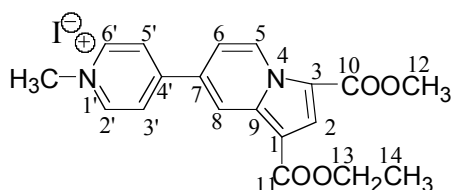
Procédé général pour la synthèse des cycloadduits monoindoliziniques

(12 a-d), par irradiation avec micro-ondes

A une solution de 1 mmole de sel diquaternaire (**9a-d**) et 1.40 mmoles de propiolate d'éthyle dans l'acétone (5 mL) on rajoute $\text{KF-Al}_2\text{O}_3$ (4 g $\text{KF-Al}_2\text{O}_3/1\text{g } \mathbf{9a-d}$) sous forte agitation. Après l'évaporation du solvant, sous vide, le solide résultant a

été activé par l'irradiation pendant 10 minute, dans un réacteur de micro-ondes multimode (700 W). Le mélange réactionnel a été après refroidi à température ambiante, lavé avec du chloroforme et filtré. Le filtrat résultant est ensuite évaporé sous vide. Le résidu brut est après purifié par suspension dans l'eau et extraction avec du chloroforme, selon la méthode décrite auparavant, conduisant à l'obtention en état pur des composés suivant (**12 a-d**).

*La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4(1-éthoxycarbonyl-3-méthoxycarbonyl-indolizin-7-yl)-pyridinium (**12a**)*



Se sintetizează conform procedului general din 0.3g (0.6 mmoli) sare (**9a**), 0.08g (0.8 mmoli; 0.082 mL) PE și 0.12g (1.1 mmoli; 0.167 mL) TEA. Cristale galbene cu punct de topire 233-235°C. M= 466 g/mol, η = 63%, η_{Mw} = 84%.

¹H RMN (300 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm= 9.49 (dd, J = 7.48, 0.79 Hz, 1H: H-5), 9.11 (d, J = 6.93 Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.76-8.77 (m, 1H: H-8), 8.59 (d, J = 6.95 Hz, 2H: H-3', H-5'), 7.85 (s, 1H: H-2), 7.82 (dd, J = 7.50, 2.14 Hz, 1H: H-6), 4.40 (s, 3H: N⁺CH₃), 4.35 (q, J = 6.90 Hz, 2H: CH₂), 3.90 (s, 3H: OCH₃), 1.37 (t, J = 6.90 Hz, 3H: CH₃).

¹³Cmult RMN (75 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 162.52 (Cquat: COO, C-11); 160.20 (Cquat: COO, C-10); 151.26 (Cquat: C-4'); 145.81 (2CH: C-2', C-6'); 136.87 (Cquat: C-9); 130.37 (Cquat: C-7); 127.99 (CH: C-5); 124.18 (2CH: C-3', C-5'); 123.68 (CH: C-2); 118.49 (CH: C-8); 115.44 (Cquat: C-3); 112.88 (CH: C-6); 107.32 (Cquat: C-1); 59.92 (CH₂: C-13); 51.75 (CH₃: OCH₃); 47.22 (CH₃:N⁺CH₃); 14.15 (CH₃: C-14).

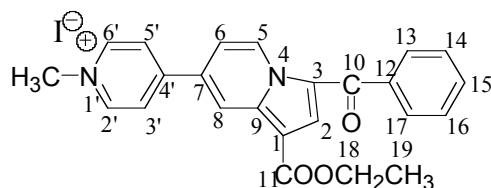
IR (ATR, cm⁻¹): 1693.20, 1680 (C=O_{ester}); 1641, 1621 1604 (C=N, C=C); 1567, 1526, 1483, 1445 (C=C_{arom}); 1370, 1243, 1202, 1191 (C-O-C și C-N).

SM (DCI, NH₃/izobutan): M=466g/mol; M⁺=339g/mol; m/z: 325[M⁺+1-CH₃; 100]; 340[M⁺+1; 16]; 311[M⁺-2CH₃; 18]; 267 [M⁺-COOC₂H₅; 9]; 126.8 [I⁻; 100]. **SM (ESI):** M=466g/mol; M⁺=339g/mol; m/z (q): 339[M⁺; (+1); 2.1·10⁷].

Pentru C₁₉H₁₉N₂O₄·0.5H₂O (475.28) Calculat: C 48.02, H 4.24, N 5.89; Găsit: C 48.13, H 4.27, N 5.77.

UV-VIS(H₂O): $\lambda_{\max}(\epsilon)$ = 404(27062); 338(9978); 284(67743); 230(37111)nm.
UV-VIS(EtOH 95%): $\lambda_{\max}(\epsilon)$ = 410(20582); 282(42130); 230(26932); 205(25023) nm.
UV-VIS(CH₃CN): $\lambda_{\max}(\epsilon)$ = 411(20608); 281(49672); 230(27884) nm.
UV-VIS(DMF): $\lambda_{\max}(\epsilon)$ = 408(20855); 282(47671); 259(9248) nm.
UV-VIS(CHCl₃): $\lambda_{\max}(\epsilon)$ = 428(16905); 289(28251) nm.
UV-VIS(acetonă): $\lambda_{\max}(\epsilon)$ = 410(29549)nm.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4(1-éthoxycarbonyl-3-benzoyl-indolizin-7-yl)-pyridinium (12b)



Se obține după procedeul general din 0.33g (0.55mmoli) sare (**9b**), 0.076g (0.77 mmoli; 0.078 mL) PE și 0.11g (1.08 mmoli; 0.15 mL) TEA. Cristale galbene cu punct de topire 215-219°C. M= 512 g/mol, η = 61%, η_{Mw} = 77%.

¹H RMN (300 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 9.92 (dd, J = 7.47, 0.81 Hz, 1H: H-5), 9.11 (d, J = 6.94 Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.88 (dd, J = 2.15, 0.84 Hz, 1H: H-8), 8.65 (d, J = 6.96 Hz, 2H: H-3', H-5'), 7.91 (dd, J = 7.51, 2.17 Hz, 1H: H-6), 7.85-7.82 (m, 2H: H-13, H-17), 7.73-7.67 (m, 2H: H-2, H-15), 7.64-7.59 (m, 2H: H-14, H-16), 4.39 (s, 3H: N⁺CH₃), 4.36 (q, J = 7.20 Hz, 2H: CH₂), 1.35 (t, J = 7.20 Hz, 3H: CH₃).

¹³Cmult RMN (75 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 184.91 (Cquat: C=O, C-10); 162.64 (Cquat: C=O, C-11); 151.27 (Cquat: C-4'); 145.91 (2CH: C-2', C-6'); 138.66 (Cquat: C-12); 137.83 (Cquat: C-9); 132.20 (Cquat: C-7); 132.05 (CH: C-15); 129.17 (CH: C-5); 128.69 (2CH: C-13, C-17); 128.55 (2CH: C-14, C-16); 127.86 (CH: C-2); 124.46 (2CH: C-3', C-5'); 122.97 (Cquat: C-3); 118.47 (CH: C-8); 113.63 (CH: C-6); 107.84 (Cquat: C-1); 60.07 (CH₂: C-18); 47.27 (CH₃: N⁺CH₃); 14.19 (CH₃: C-19).

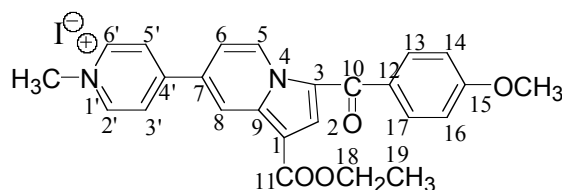
IR (ATR, cm⁻¹): 1681 (C=O_{ester}); 1641 (C=O); 1598, 1567, 1526, 1466 (C=N și C=C_{arom}); 1206 (C-O-C).

SM (DCI, NH₃/izobutan): M=512g/mol; M⁺=385g/mol; m/z: 371[M⁺+1-CH₃, 100]; 387[M⁺+2; 5]; 126.8[I⁻; 100]. **SM (ESI):** M=512g/mol; M⁺=385g/mol; m/z (q): 385[M⁺; (+1); 6·10⁷].

Pentru C₂₄H₂₁N₂O₃·1.5H₂O (539.37) Calculat: C 53.39, H 4.55, N 5.38; Găsit: C 53.10, H 4.40, N 5.11.

UV-VIS (H₂O): $\lambda_{\max}(\epsilon) = 413(21220); 293(26531); 228(23120)\text{nm}$. **UV-VIS (EtOH 95%):** $\lambda_{\max}(\epsilon) = 416(18630); 296(27487); 230(22611)\text{ nm}$. **UV-VIS (CH₃CN):** $\lambda_{\max}(\epsilon) = 417(23848); 295(36479); 232(28502)\text{ nm}$. **UV-VIS (DMF):** $\lambda_{\max}(\epsilon) = 414(19937); 294(28807)\text{ nm}$. **UV-VIS (CHCl₃):** $\lambda_{\max}(\epsilon) = 432(15492); 304(21475)\text{ nm}$. **UV-VIS (acetona):** $\lambda_{\max}(\epsilon) = 417(27921)\text{nm}$.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-éthoxycarbonyl-3-(para-méthoxybenzoyl)-indolizin-7-yl]-pyridinium (12c)



Se prepară conform procedurii generale din 0.3g (0.52 mmoli) sare (**9c**), 0.07g (0.71 mmoli; 0.073 mL) PE și 0.1g (0.9 mmoli; 0.14 mL) TEA. Cristale galbene cu punct de topire 238-240°C. $M = 542\text{g/mol}$, $\eta = 71\%$, $\eta_{\text{Mw}} = 85\%$.

¹H RMN (300 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 9.83 (d, $J = 7.45\text{ Hz}$, 1H: H-5), 9.10 (d, $J = 6.85\text{ Hz}$, 2H: H-2', H-6'), 8.87 (d, $J = 1.25\text{ Hz}$, 1H: H-8), 8.64 (d, $J = 6.87\text{ Hz}$, 2H: H-3', H-6'), 7.88-7.84 (m, 3H: H-6, H-13, H-17), 7.73 (s, 1H: H-2), 7.16 (d, $J = 8.79\text{ Hz}$, 2H: H-14, H-16), 4.40 (s, 3H: N⁺CH₃), 4.36 (q, $J = 7.20\text{ Hz}$, 2H: CH₂), 3.89 (s, 3H: OCH₃), 1.36 (t, $J = 7.20\text{ Hz}$, 3H: CH₃).

¹³Cmult RMN (75 MHz, *DMSO-d*₆) δ ppm = 183.59 (Cquat: C=O, C-10); 162.69 (Cquat: COO, C-11); 162.49 (Cquat: C-15); 151.25 (Cquat: C-4'); 145.87 (2CH: C-2', C-6'); 137.49 (Cquat: C-9); 131.69 (Cquat: C-7); 131.09 (2CH: C-13, C-17); 130.86 (Cquat: C-12); 129.01 (CH: C-5); 127.03 (CH: C-2); 124.33 (2CH: C-3', C-5'); 123.12 (Cquat: C-3); 118.41 (CH: C-8); 113.89 (2CH: C-14, C-16); 113.22 (CH: C-6); 107.58 (Cquat: C-1); 60.01 (CH₂:C-18); 55.45 (CH₃: OCH₃); 47.24 (CH₃:N⁺CH₃); 14.69 (CH₃: C-19).

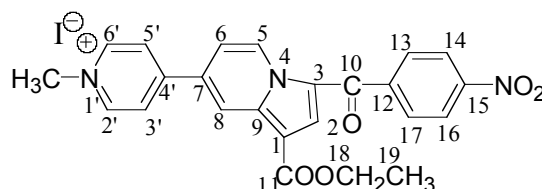
IR (ATR, cm⁻¹): 1698 (C=O_{ester}); 1643 (C=O); 1614, 1601 (C=N, C=C); 1264, 1246, 1193, 1174, 1077 (C-O-C și C-N).

SM (DCI, NH₃/izobutan): $M = 542\text{g/mol}$; $M^+ = 415\text{g/mol}$; m/z : 401 [$M^+ + 1 - \text{CH}_3$; 100]; 126.7 [I⁻; 100]. **SM (ESI):** $M = 542\text{g/mol}$; $M^+ = 415\text{g/mol}$; m/z (q): 415 [M^+ ; (+1); $3 \cdot 10^7$].

Pentru $C_{25}H_{23}IN_2O_4 \times 1H_2O$ (560.38) Calculat: C 53.53, H 4.56, N 5.18; Găsit: C 53.51, H 4.36, N 4.91.

UV-VIS (H_2O): $\lambda_{max}(\epsilon) = 415(16595); 359(8671); 300(18077); 226(18922)nm$. **UV-VIS (EtOH 95%):** $\lambda_{max}(\epsilon) = 418(9889); 302(13255); 225(12390)nm$. **UV-VIS (CH_3CN):** $\lambda_{max}(\epsilon) = 420(28333); 356(13341); 300(41011); 271(30655) nm$. **UV-VIS (DMF):** $\lambda_{max}(\epsilon) = 413(15564); 296(23608); 256(9794) nm$. **UV-VIS ($CHCl_3$):** $\lambda_{max}(\epsilon) = 436(18998); 308(25477); 272(18500) nm$. **UV-VIS (acetona):** $\lambda_{max}(\epsilon) = 418(20862); 356(14211) nm$.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-éthoxycarbonyl-3-(para-nitrobenzoyl)-indolizin-7-yl]-pyridinium (12d)



Se sintetizează conform procedurii general din 0.3g (0.5 mmoli) sare dicuaternară (**9d**), 0.07g (0.7 mmoli; 0.072 mL) PE și 0.1g (0.9 mmoli; 0.14 mL) TEA. Cristale galbene cu punct de topire 237-238°C. $M = 557g/mol$, $\eta = 53\%$, $\eta_{Mw} = 71\%$.

1H RMN (300 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm = 9.95 (dd, $J = 7.45, 0.74$ Hz, 1H: H-5), 9.12 (d, $J = 6.96$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.90 (dd, $J = 2.10, 0.79$ Hz, 1H: H-8), 8.66 (d, $J = 6.98$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.43 (d, $J = 8.81$ Hz, 2H: H-14, H-16), 8.06 (d, $J = 8.84$ Hz, 2H: H-13, H-17), 7.96 (dd, $J = 7.50, 2.14$ Hz, 1H: H-6), 7.74 (s, 1H: H-2), 4.40 (s, 3H: N^+CH_3), 4.36 (q, $J = 7.20$ Hz, 2H: CH_2), 1.35 (t, $J = 7.17$ Hz, 3H: CH_3).

^{13}C mult RMN (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm = 183.15 (Cquat: $C=O$, C-10); 162.52 (Cquat: COO , C-11); 151.16 (Cquat: C-4'); 149.16 (Cquat: C-15); 145.96 (2CH: C-2', C-6'); 144.06 (Cquat: C-12); 138.24 (Cquat: C-9); 132.80 (Cquat: C-7); 129.96 (2CH: C-13, C-17); 129.34 (CH: C-5); 128.46 (CH: C-2); 124.56 (2CH: C-3', C-5'); 123.72 (2CH: C-14, C-16); 122.64 (Cquat: C-3); 118.48 (CH: C-8); 114.07 (CH: C-6); 108.30 (Cquat: C-1); 60.13 (CH_2 :C-18); 47.31 (CH_3 : N^+CH_3); 14.19 (CH_3 : C-19).

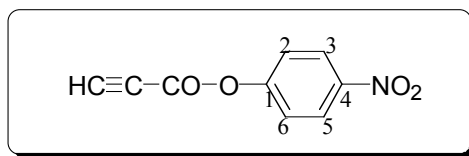
IR (ATR, cm^{-1}): 1701 ($C=O_{ester}$); 1640 ($C=O$); 1621, 1594 ($C=N$, $C=C$); 1509, 1346 (NO_2); 1208 ($C-O-C$).

SM (DCI, NH₃/izobutan): M=557g/mol; M⁺=430g/mol; m/z: 416[M⁺+1-CH₃; 100]; 126.8[I⁺; 100]. **SM (ESI):** M=557g/mol; M⁺=430g/mol; m/z (q): 430[M⁺; (+1); 5·10⁶].

Pentru C₂₄H₂₀IN₃O₅ (557.34) Calculat: C 51.73, H 3.62, N 7.54; Găsit: C 51.69, H 3.88, N 7.47.

UV-VIS (H₂O): λ_{max}(ε)= 419(20112); 289(27974); 228(18606)nm. **UV-VIS (EtOH 95%):** λ_{max}(ε)= 418(17393); 288(24502); 229(16476)nm. **UV-VIS (CH₃CN):** λ_{max}(ε)= 419(32558); 288(51667); 230(34861) nm. **UV-VIS (DMF):** λ_{max}(ε)= 419(32201); 289(49706); 262(3405); 257(14286) nm. **UV-VIS (CHCl₃):** λ_{max}(ε)= 430(34583); 292(47336); 268(40369) nm. **UV-VIS (acetonă):** λ_{max}(ε)= 418(31432)nm.

V.6. La synthèse du propiolate de 4-nitro-phenyle (13)

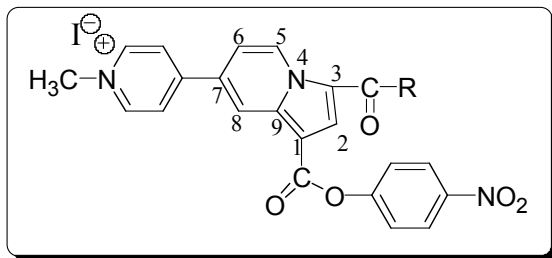


Une solution contenant 0.7g (10 mmoles; 0.61 mL) d'acide propiolique et 0.99g (7.1 mmoles) de *para*-nitrophenole dans 40 mL dichloroéthane anhydre, est traitée à 0-5°C, sous atmosphère inerte d'azote, sous forte agitation, avec une solution de 1.83g (8.8 mmoles) de dicyclohexyl-carbodiimide (DCC) dans 10 mL dichloroéthane, et une quantité catalytique (0.025g; 0.2 mmol) de DMAP. Après l'ajout de tous les réactifs on observe l'apparition d'un précipité blanc. Le mélange réactionnel est agité 24h, à température ambiante, sous azote. A la fin de la réaction, le milieu réactionnel est filtré pour éliminer la N,N-dicyclohexylurée (précipité blanc). Le filtrat brun obtenu est évaporé sous vide, pour l'élimination du solvant. Le résidu brut obtenu est repris avec du chloroforme et par séparation par chromatographie sur colonne (silice, chloroforme) le produit désiré (**13**) est obtenu à l'état pur. Aiguilles cristallines blanches avec point du fusion 135-137°C. M= 191 g/mol, η= 55%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm= 8.30 (d, J = 9.07 Hz, 2H: H-3, H-5), 7.36 (d, J = 9.07 Hz, 2H; H-2, H6), 3.17 (s, 1H:HC_{sp}).

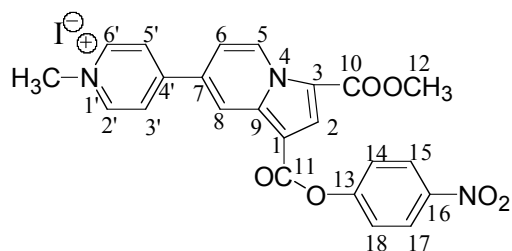
IR (ATR, cm^{-1}): 3290 ($\text{C}_{\text{sp}}\text{H}$); 2129 ($\text{C}\equiv\text{C}$); 1741 ($\text{C}=\text{O}_{\text{ester}}$); 1530, 1352 (NO_2).

V.7. Procédé général pour la synthèse des cycloadduits monoindoliziniques (15 a-d) utilisant comme dipolarophile le propiolate de 4-nitro-phenyle



1 mmole de sel diquatenaire (**9a-d**) est dispersée sous agitation dans la N-méthylpyrrolidinone (10 mL). Dans la suspension obtenue on rajoute, sous forte agitation, 1.40 mmoles de propiolate de 4-nitrophenyle et 2 mmoles de KF. Le mélange réactionnel est chauffé, à 95°C , pendant 30 minutes. Le produit désiré (**15a-d**) est ensuite précipité avec l'acétate d'éthyle. Le précipité obtenu se sépare par filtration et est lavé, sur le filtre, avec l'acétate d'éthyle et l'éther éthylique. Pour la purification; le produit brut est après suspendu dans une solution de NaI 1M (10-15 mL) et est extrait avec du chloroforme. La phase organique est séparée, séchée sur Na_2SO_4 anhydre et est concentrée par évaporation sous vide. Les composés (**15a-d**) sont obtenus sous forme des cristaux jaunes, par précipitation avec l'éther éthylique, filtration et séchage sous vide.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(4-nitrophenoxy-carbonyl)-3-métoxy-carbonyl-indolizin-7-yl]-pyridinium (15a)



Se sintetizează conform procedurii general din 0.3g (0.6 mmoli) sare dicuatenară (**9a**), 0.16g (0.83 mmoli) propiolat de 4-nitrofenil și 0.07g (1.2 mmoli) KF. Cristale galbene cu punct de topire $190-192^\circ\text{C}$. $M = 559\text{g/mol}$, $\eta = 45\%$.

^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 9.65 (d, $J = 7.59$ Hz, 1H: H-5), 9.08 (d, $J = 6.56$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.85 (d, $J = 1.45$ Hz, 1H: H-8), 8.64 (d, $J = 6.59$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.38 (d, $J = 9.05$ Hz, 2H: H-15, H-17), 8.20 (s, 1H: H-2), 7.92 (dd, $J = 7.56, 1.49$ Hz, 1H: H-6), 7.67 (d, $J = 9.05$ Hz, 2H: H-14, H-18), 4.37 (s, 3H: N^+CH_3), 3.95 (s, 3H: OCH_3).

^{13}C mult RMN (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 160.22 (Cquat: COO , C-10); 155.19 (Cquat: C-13); 155.04 (Cquat: COO , C-11); 151.21 (Cquat: C-4'); 145.86 (2CH: C-2', C-6'); 144.85 (Cquat: C-16); 137.84 (Cquat: C-9); 131.57 (Cquat: C-7); 128.61 (CH: C-5); 125.12 (2CH: C-15, C-17); 124.67 (CH: C-2); 124.49 (2CH: C-3', C-5'); 123.17 (2CH: C-14, C-18); 118.41 (CH: C-8); 116.24 (Cquat: C-3); 113.60 (CH: C-6); 105.17 (Cquat: C-1); 51.93 (CH_3 : OCH_3); 47.27 (CH_3 : N^+CH_3).

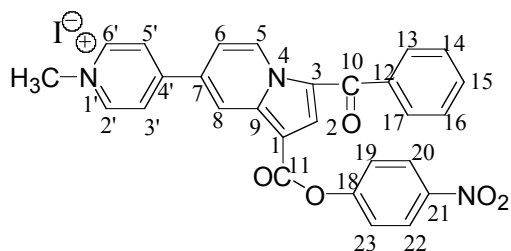
IR (ATR, cm^{-1}): 1722, 1695 ($\text{C=O}_{\text{ester}}$); 1641, 1627 (C=N , C=C); 1519, 1346 (NO_2); 1210, 1189, 1160 (C-O-C și C-N).

SM (ESI): $M = 559 \text{ g/mol}$; $M^+ = 432 \text{ g/mol}$; m/z (q): 432 [M^+ ; (+1); $2 \cdot 10^6$].

Pentru $\text{C}_{23}\text{H}_{18}\text{IN}_3\text{O}_6 \times 1.75\text{KF}$ (660.46) Calculat: C 41.79, H 2.74, N 6.36; Găsit: C 41.48, H 3.33, N 6.34.

UV-VIS(H_2O): $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 404(8294)$; $286(26394)$; $226(21680)\text{nm}$.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(4-nitrophenoxy-carbonyl)-3-benzoyl-indolizin-7-yl]-pyridinium (15b)



Se obține după procedeul general din 0.3g (0.55 mmoli) sare (**9b**), 0.14g (0.73 mmoli) propiolat de 4-nitrofenil și 0.06g (1.03 mmoli) KF. Cristale galbene cu punct de topire 195-196°C. $M = 605 \text{ g/mol}$, $\eta = 60\%$.

^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 9.99 (d, $J = 7.65$ Hz, 1H: H-5), 9.10 (d, $J = 6.79$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.91 (d, $J = 1.34$ Hz, 1H: H-8), 8.68 (d, $J = 6.81$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.37 (d, $J = 9.13$ Hz, 2H: H-20, H-22), 8.01-7.98 (m, 2H: H-6, H-2), 7.92-7.88 (m, 2H: H-13, H-17), 7.74-7.61 (m, 5H: H-14, H-15, H-16, H-19, H-23), 4.39 (s, 3H: N^+CH_3).

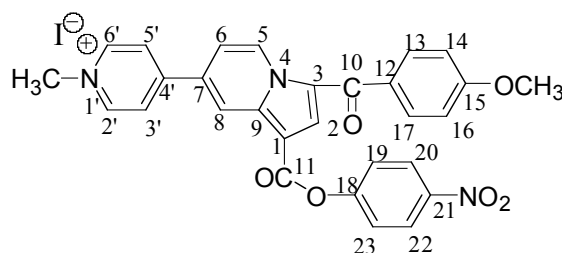
^{13}C mult RMN (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 184.96 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$, C-10); 160.32 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$, C-11); 155.10 (Cquat: C-18); 151.06 (Cquat: C-4'); 145.91 (2CH: C-2', C-6'); 144.88 (Cquat: C-21); 138.54 (Cquat: C-12); 138.40 (Cquat: C-9); 133.07 (Cquat: C-7); 132.20 (CH: C-15); 129.60 (CH: C-5); 128.92 (CH: C-2); 128.79 (2CH: C-13, C-17); 128.59 (2CH: C-14, C-16); 125.07 (2CH: C-20, C-22); 124.62 (2CH: C-3', C-5'); 123.51 (Cquat: C-3); 123.23 (2CH: C-19, C-23); 118.23 (CH: C-8); 114.15 (CH: C-6); 105.62 (Cquat: C-1); 47.31 (CH_3 : N^+CH_3).

IR (ATR, cm^{-1}): 1725 ($\text{C}=\text{O}_{\text{ester}}$); 1633.82 ($\text{C}=\text{O}$); 1623 ($\text{C}=\text{N}$); 1517, 1344(NO_2); 1158, 1112, 1102 (C-O-C și C-N).

SM (ESI): $M=605\text{g/mol}$; $M^+=478\text{g/mol}$; m/z (q): 478[M^+ ; (+1); $2.1 \cdot 10^6$].

Pentru $\text{C}_{28}\text{H}_{20}\text{IN}_3\text{O}_5$ (605.38) Calculat: C 55.56, H 3.33, N 6.95; Găsit: C 55.57, H 3.54, N 7.09.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(4-nitrophenoxy-carbonyl)-3-(para-méthoxy-benzoyl)-indolizin-7-yl]-pyridinium (15c)



Se sintetizează după procedeul general din 0.2g (0.34 mmoli) sare dicuaternară (**9c**), 0.09g (0.47 mmoli) propiolat de 4-nitrofenil și 0.04g (0.68 mmoli) KF. Cristale galbene cu punct de topire 198-199°C. $M=635\text{ g/mol}$, $\eta=63\%$.

^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm= 9.90 (d, $J=7.54\text{ Hz}$, 1H: H-5), 9.10 (d, $J=6.42\text{ Hz}$, 2H: H-2', H-6'), 8.90 (s, 1H: H-8), 8.67 (d, $J=6.46\text{ Hz}$, 2H: H-3', H-5'), 8.38 (d, $J=9.04\text{ Hz}$, 2H: H-20, H-22), 8.01-7.91 (m, 4H: H-2, H-6; H-13, H-17), 7.66 (d, $J=9.01\text{ Hz}$, 2H: H-19, H-23), 7.17 (d, $J=8.76\text{ Hz}$, 2H: H-14, H-16), 4.38 (s, 3H: N^+CH_3), 3.89 (s, 3H: OCH_3).

^{13}C mult RMN (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 183.66 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$, C-10); 162.65 (Cquat: C-15); 160.39 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$, C-11); 155.16 (Cquat: C-18); 151.12 (Cquat: C-4'); 145.88 (2CH: C-2', C-6'); 144.86 (Cquat: C-21); 138.29 (Cquat: C-9); 132.66 (Cquat: C-7); 131.24 (2CH: C-13, C-17); 130.65 (Cquat: C-12); 129.52 (CH: C-5); 127.79 (CH: C-2); 125.09 (2CH: C-20, C-22); 124.56 (2CH: C-3', C-5'); 123.72 (Cquat: C-3); 123.22 (2CH: C-19, C-23); 118.22 (CH: C-8); 113.97 (2CH: C-14, C-

16); 113.79 (CH: C-6); 105.36 (Cquat: C-1); 55.46 (CH₃: OCH₃); 47.29 (CH₃: N⁺CH₃).

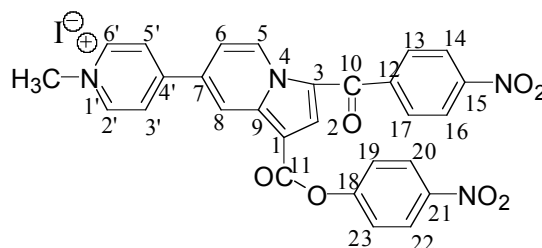
IR (ATR, cm⁻¹): 1717 (C=O_{ester}); 1640 (C=O); 1594 (C=N); 1518, 1342(NO₂); 1208, 1153, 1110, 1068 (C-O-C și C-N).

SM (ESI): M=635g/mol; M⁺=508g/mol; m/z (q): 508[M⁺; (+1); 3.45·10⁵].

Pentru C₂₉H₂₂IN₃O₆×0.4CHCl₃ (683.16) Calculat: C 52.24, H 3.73, N 5.90; Găsit: C 52.30, H 3.68, N 6.23.

UV-VIS(H₂O): λ_{max}(ε)= 407(13302); 358(11074); 286 (23470); 226(25452)nm.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(4-nitrophenoxy-carbonyl)-3-(para-nitro-benzoyl)-indolizin-7-yl]-pyridinium (15d)



Se obține conform procedeului general din 0.3g (0.51 mmoli) sare dicuaternară (**9d**), 0.13g (0.68 mmoli) propiolat de 4-nitrofenil și 0.06g (1.03 mmoli) KF. Cristale galbene cu punct de topire 195-197°C. M= 650 g/mol, η= 66%.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm = 10.01 (d, *J* = 7.46 Hz, 1H: H-5), 9.12 (d, *J* = 6.65 Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.92 (d, *J* = 1.23 Hz, 1H: H-8), 8.69 (d, *J* = 6.68 Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.44 (d, *J* = 8.81 Hz, 2H: H-14, H-16), 8.37 (d, *J* = 9.15 Hz, 2H: H-20, H-22), 8.12-8.02 (m, 4H: H-2, H-6, H-13, H-17), 7.64 (d, *J* = 9.16 Hz, 2H: H-19, H-23), 4.40 (s, 3H: N⁺CH₃).

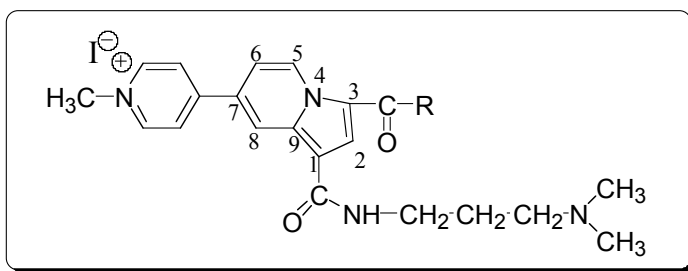
¹³Cmult RMN (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm = 183.31 (Cquat: C=O, C-10); 160.22 (Cquat: C=O, C-11); 155.04 (Cquat: C-18); 160.97 (Cquat: C-15); 149.16 (2Cquat: C-4', C-21); 145.94 (2CH: C-2', C-6'); 144.89 (Cquat: C-9); 143.81 (Cquat: C-12); 138.9 (Cquat: C-7); 133.64 (Cquat: C-3); 130.04 (2CH: C-13, C-17); 129.76 (CH: C-5); 129.32 (CH: C-2); 125.10 (2CH: C-20, C-22); 124.71 (2CH: C-3', C-5'); 123.72 (2CH: C-19, C-23); 123.17 (2CH: C-14, C-16); 118.24 (CH: C-8); 114.57 (CH: C-6); 106.09 (Cquat: C-1); 47.35 (CH₃: N⁺CH₃).

IR (ATR, cm^{-1}): 1720 ($\text{C}=\text{O}_{\text{ester}}$); 1639.81 ($\text{C}=\text{O}$); 1624, 1593 ($\text{C}=\text{N}$, $\text{C}=\text{C}$); 1517, 1341(NO_2); 1232, 1209, 1158, 1109 ($\text{C}-\text{O}-\text{C}$ și $\text{C}-\text{N}$).

SM (ESI): $M=650\text{g/mol}$; $M^+=523\text{g/mol}$; m/z (q): 523 [M^+ ; (+1); $6 \cdot 10^5$].

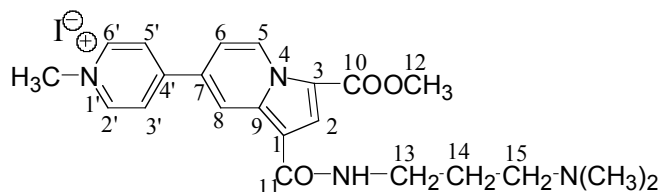
Pentru $\text{C}_{28}\text{H}_{19}\text{IN}_4\text{O}_7$ (650.38) Calculat: C 51.71, H 2.94, N 8.61; Găsit: C 52.05, H 3.19, N 8.59.

V.8. Procédé général pour la synthèse des iodures de N-méthyl-4[1-(3-diméthylamino-1-propyl)-amido-indolizin-7-yl]-pyridinium (16a-d)



1 mmole de pyridinium-monoindolizine (**15a-d**) est dissoute dans 10 mL de DMF, sous forte agitation. A la solution obtenue, on rajoute un grand excès (4 mmol) de 3-(diméthylamino)-1-propylamine. Le mélange réactionnel est chauffé à 50-60°C, sous agitation, pendant 2 heures. Le produit désiré (**16a-d**) est obtenu par précipitation avec l'acétate d'éthyle. Le précipité formé est séparé par filtration; lavé avec l'acétate d'éthyle et l'éther éthylique et séché sous vide. Pour la purification; le précipité brut est soumis à une recristallisation fractionnée dans l'éthanol avec isopropyl-éther (vapeurs). Le produit final pur est récupéré de la solution éthanolique par centrifugation; sous forme des cristaux jaunes.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(3-diméthylamino-1-propyl)-amido-3-métoxycarbonyl-indolizin-7-yl]-pyridinium (16a)



Se sintetizează conform procedeului general din 0.1g (0.17 mmoli) compus (**15a**) și 0.07g (0.68 mmoli; 0.086 mL) 3-dimetilamino-1-propilamină. Cristale galbene cu punct de topire 188-190°C. $M=522\text{ g/mol}$, $\eta=58\%$.

^1H RMN (300 MHz, D_2O) δ ppm = 8.78 (d, $J = 7.70$ Hz, 1H: H-5), 8.69 (d, $J = 6.16$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.30 (s, 1H: H-8), 8.12 (d, $J = 6.15$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 7.44 (s, 1H: H-2), 7.09 (dd, $J = 7.75, 1.37$ Hz, 1H: H-6), 4.29 (s, 3H: N^+CH_3), 3.72 (s, 3H: OCH_3), 3.17 (t, $J = 6.94$ Hz, 2H: H-13), 2.43 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H: H-15), 2.23 (s, 6H: 2CH_3), 1.73-1.64 (m, 2H: H-14).

^1H RMN-presat (300 MHz, D_2O) δ ppm = 8.87 (d, $J = 7.24$ Hz, 1H: H-5), 8.77 (d, $J = 5.30$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.38 (s, 1H: H-8), 8.20 (d, $J = 5.35$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 7.53 (s, 1H: H-2), 7.18 (dd, $J = 7.28, 1.67$ Hz, 1H: H-6), 4.37 (s, 3H: N^+CH_3), 3.81 (s, 3H: OCH_3), 3.26 (t, $J = 6.75, 6.75$ Hz, 2H: H-13), 2.55-2.50 (m, 2H: H-15), 2.32 (s, 6H: 2CH_3), 1.82-1.73 (m, 2H: H-14).

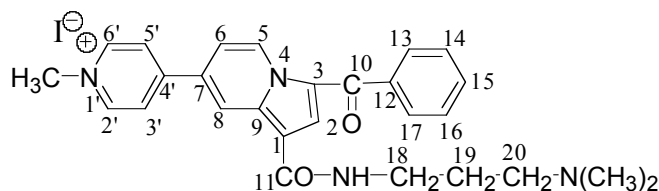
^{13}C mult RMN (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 165.65 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$, C-11); 162.14 (Cquat: COO , C-10); 152.70 (Cquat: C-4'); 145.63 (2CH: C-2', C-6'); 137.06 (Cquat: C-9); 129.45 (Cquat: C-7); 128.27 (CH: C-5); 124.51 (2CH: C-3', C-5'); 123.45 (CH: C-2); 119.13 (CH: C-8); 115.81 (Cquat: C-3); 112.11 (CH: C-6); 110.72 (Cquat: C-1); 56.23 (CH_2 : C-15); 52.60 (CH_3 : OCH_3); 47.99 (CH_3 : N^+CH_3); 43.82 (2CH_3 : $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 37.33 (CH_2 : C-13); 26.03 (CH_2 : C-14).

IR (ATR, cm^{-1}): 3263 (N-H), 3039 (CH_{arom}); 2948, 2863, 2821 (CH_{alif}); 1682 ($\text{C}=\text{O}_{\text{ester}}$); 1643 ($\text{C}=\text{O}_{\text{amidă}}$), 1625 ($\text{C}=\text{N}$); 1566, 1540, 1503 ($\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ și N-H_{def}); 1237, 1222, 1045 (C-O-C); 1190 (C-N).

SM (ESI): $M = 552 \text{ g/mol}$; $M^+ = 395 \text{ g/mol}$; m/z (q): 395 [M^+ ; (+1); $3 \cdot 10^6$].

UV-VIS(H_2O): $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 409(13326)$; 343(4422); 286(29202); 228(29211) nm.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(3-diméthylamino-1-propyl)-amido-3-benzoyl-indolizin-7-yl]-pyridinium (16b)



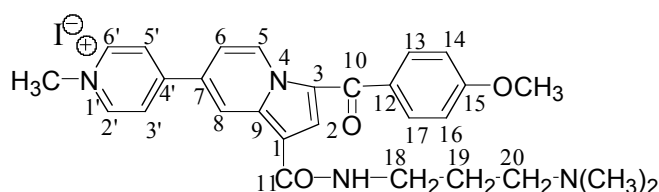
Se obține după procedeul general din 0.05 g (0.08 mmoli) compus (**15b**) și 0.033 g (0.32 mmoli; 0.041 mL) 3-dimetilamino-1-propilamină. Cristale galben-roșcate cu punct de topire 176-178°C. $M = 568 \text{ g/mol}$, $\eta = 48\%$.

^1H RMN (300 MHz, D_2O) δ ppm = 9.27 (d, $J = 7.38$ Hz, 1H: H-5), 8.72 (d, $J = 6.72$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.46 (d, $J = 0.81$ Hz, 1H: H-8), 8.08 (d, $J = 6.70$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 7.69 (t, $J = 6.98$ Hz, 1H: H-15), 7.56-7.47 (m, 5H: H-13, H-17, H-14, H-

16, H-2), 7.24 (dd, $J = 7.32, 1.53$ Hz, 1H: H-6), 4.42 (s, 3H: N^+CH_3), 3.36 (t, $J = 7.05$ Hz, 2H: H-18), 2.58 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H: H-20), 2.39 (s, 6H: $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.91-1.81 (m, 2H: H-19).

IR (ATR, cm^{-1}): 3249 (N-H), 3031 (CH_{arom}); 2938 (CH_{alif}); 1642 ($\text{C}=\text{O}_{\text{amid}}$), 1615 ($\text{C}=\text{O}$), 1598 ($\text{C}=\text{N}$); 1500, 1452 ($\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$); 1192, 1021 (C-N).

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(3-diméthylamino-1-propyl)-amido-3-(para-métoxy-benzoyl)-indolizin-7-yl]-pyridinium (16c)



Se sintetizează după procedeul general din 0.1g (0.15 mmoli) compus (**15c**) și 0.06g (0.58 mmoli; 0.08 mL) 3-dimetilamino-1-propilamină. Cristale galbene cu punct de topire 195-196°C. $M=598$ g/mol, $\eta=55\%$.

^1H RMN (300 MHz, D_2O) δ ppm = 9.34 (d, $J = 6.18$ Hz, 1H: H-5), 8.80 (d, $J = 7.07$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.55 (s, 1H: H-8), 8.23 (d, $J = 7.05$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 7.56-7.54 (m, 3H: H-13, H-17, H-2), 7.32 (d, $J = 6.16$ Hz, 1H: H-6), 6.89 (d, $J = 6.92$ Hz, 2H: H-14, H-16), 4.43 (s, 3H: N^+CH_3), 3.88 (s, 3H: OCH_3), 3.53 (t, $J = 5.14$ Hz, 2H: H-18), 3.29 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H: H-20), 2.96 (s, 6H: $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.19-2.09 (m, 2H: H-19).

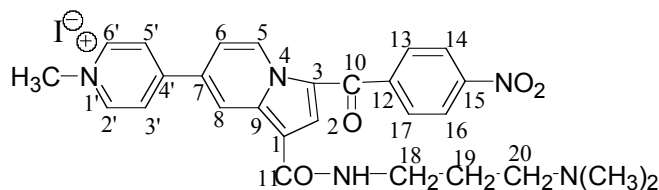
^{13}C mult RMN (75 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm = 184.65 (Cquat: $\text{C}=\text{O}$, C-10); 175.91 (Cquat: $\text{C}=\text{O}_{\text{amidă}}$, C-11); 165.73 (Cquat: C-15); 152.83 (Cquat: C-4'); 145.56 (2CH: C-2', C-6'); 138.16 (Cquat: C-9); 131.98 (2CH: C-13, C-17); 131.68 (Cquat: C-7); 130.62 (Cquat: C-12); 129.26 (CH: C-5); 126.11 (CH: C-2); 125.08 (2CH: C-3', C-5'); 122.69 (Cquat: C-3); 119.25 (CH: C-8); 114.13 (2CH: C-14, C-16); 113.14 (CH: C-6); 111.14 (Cquat: C-1); 56.10 (CH_3 : OCH_3); 56.01 (CH_2 : C-20); 47.98 (CH_3 : N^+CH_3); 43.37 (2CH₃: $\text{N}(\text{CH}_3)_2$); 32.15 (CH_2 : C-18); 25.14 (CH_2 : C-19).

IR (ATR, cm^{-1}): 3279 (N-H), 3029 (CH_{arom}); 2935, 2957 (CH_{alif}); 1642 ($\text{C}=\text{O}_{\text{amid}}$); 1611 ($\text{C}=\text{O}$), 1599 ($\text{C}=\text{N}$); 1565, 1537, 1502, 1469 ($\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ și N-H_{def}); 1299, 1236, 1168, 1108 (C-O-C și C-N).

SM (ESI): $M=598$ g/mol; $M^+=471$ g/mol; m/z (q): 471 [M^+ ; (+1); $1.25 \cdot 10^6$].

UV-VIS(H_2O): $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 423(20600); 361(10754); 303(21729); 326(33231)\text{nm}$.

La synthèse de l'iodure de N-méthyl-4[1-(3-diméthylamino-1-propyl)-amido-3-(para-nitro-benzoyl)-indolizin-7-yl]-pyridinium (16d)



Se sintetizează conform procedurii general din 0.1g (0.15 mmoli) compus (**15d**) și 0.062g (0.6 mmoli; 0.08 mL) 3-dimetilamino-1-propilamină. Cristale galbene cu punct de topire 179-181°C. $M=613$ g/mol, $\eta=50\%$.

^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm= 9.93 (d, $J = 7.35$ Hz, 1H: H-5), 9.22 (s, 1H: H-8), 9.08 (d, $J = 6.08$ Hz, 2H: H-2', H-6'), 8.62 (d, $J = 6.09$ Hz, 2H: H-3', H-5'), 8.45 (d, $J = 8.50$ Hz, 2H: H-14, H-16), 8.09-8.06 (m, 3H: H-13, H-17, H-2), 7.90-7.87 (m, 1H: H-6), 4.38 (s, 3H: N^+CH_3), 3.32 (m, $\text{H}_2\text{O}_{\text{rezid}}$, H-18); 2.26 (t, $J = 6.76$ Hz, 2H: H-20), 2.13 (s, 6H: $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 1.68-1.63 (m, 2H: H-19).

IR (ATR, cm^{-1}): 3259 (N-H), 3031 (H- C_{arom}); 2936, 2864 (H- C_{alif}); 1642 ($\text{C}=\text{O}_{\text{amidă}}$); 1613 ($\text{C}=\text{O}$); 1592 ($\text{C}=\text{N}$); 1518, 1340 (NO_2); 1191, 1104 (C-N).

V.9. Détermination des indices d'insaturation (I.N.) et peroxyde (I.P.)

Determinarea indicelui de nesaturare (I.N.)

Într-un flacon iodometric de 250 mL s-au cântărit 0,25g probă, care s-au dizolvat în 10 mL cloroform. La aceasta s-a adăugat 25 mL reactiv *Hannus* măsurat cu biureta; flaconul a fost lăsat închis la întuneric un sfert de oră, agitându-se periodic. Apoi, s-au adăugat 15 mL KI 10% și s-a titrat iodul cu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ N/10 în prezența amidonului 1% ca indicator.

În paralel, s-a pregătit o probă în alb cu aceleași cantități de reactivi, dar fără ulei. Aceasta s-a titrat cu tiosulfat în condițiile probei de analizat.

Determinarea indicelui de peroxid (I.P.)

Într-un flacon iodometric de 100 mL s-a dizolvat 1g probă în 6 mL amestec acid acetic:cloroform și s-a adăugat 1 mL soluție KI saturată. Flaconul a fost închis cu dop și agitat energic timp de trei minute lăsându-se apoi în repaus 5 minute; s-au adăugat 3-4 picături de soluție de amidon 1% și s-a titrat iodul format cu tiosulfat N/500. Aceleași etape au fost parcurse și pentru o probă *în alb* (fără ulei).

CONCLUSIONS

VI. CONCLUSIONS GÉNÉRALES. PROPOSITIONS POUR RECHERCHES SUIVANTES

Les résultats obtenus après les études expérimentales et théoriques concernant la synthèse et les propriétés physico-chimiques et biologiques des composés de la série 4,4'-bipyridine et des composés indoliziniques dérivés de ceux-ci, nous conduisent à une série de conclusions générales basées sur la réalisation des objectifs de cette thèse.

1. On a confirmé la réactivité significative de la 4,4'-bipyridine dans les réactions d'alkylation avec des dérivés halogénés réactifs:

- a. par l'extension de la méthode de synthèse des sels diquaternaires de la 4,4'-bipyridine, on a réalisé la synthèse des deux nouveaux sels diquaternaires symétriques de 4,4'-bipyridinium, ayant des substituants avec des structures complexes;
- b. on a réalisé l'optimisation des conditions de synthèse de l'iodure de 4-(4-pyridyl)-pyridinium, avec l'amélioration de la pureté du produit final;
- c. partant de l'iodure de 4-(4-pyridyl)-pyridinium, nous avons mis au point les conditions optimales de quaternisation du second atome d'azote, synthétisant ainsi, avec de très bons rendements, quatre nouveaux sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium;
- d. en vue de la synthèse des sels diquaternaires non-symétriques on a obtenu les dérivées iodés réactifs, utilisant comme produits de départ les dérivées bromés correspondants;
- e. la structure des tous les sels synthétisés a été établie par analyses spectroscopiques et microanalyse;

2. On a réalisé l'étude expérimentale de la réaction de cycloaddition [3+2]-dipolaire des sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium avec les alcynes activés non-symétriques, en milieu basique:

- a. Nous avons ainsi synthétisé deux nouvelles séries de cycloadduits monoindoloziniques, avec un reste cationique de sel de N-méthyl-pyridinium en position 7 du noyau indolizinique et différents substituants dans les positions 1 et 3 du noyau indolizinique;

- b. les réactions des sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium avec les dipolarophiles acétyléniques (esters propioliques) sont réalisées avec la formation *in situ* d'un mono-ylure, en présence d'un milieu basique;
- c. en fonction de la nature de l'ester propiolique utilisé on a optimisé les conditions de réaction, par la choix adéquat du réactif basique (TEA ou KF), du solvant organique et de la température et la durée optimale de la réaction;
- d. 4 nouveaux cycloadduits pyridinium-mono-indolizines ont été ainsi synthétisés utilisant comme dipolarophile le propiolate d'éthyle (en présence de la TEA);
- e. pour la première fois, a été réalisée la réaction de quelques sels diquaternaires non-symétriques de 4,4'-bipyridinium, avec le propiolate de 4-nitro-phenyle, formant 4 nouveaux cycloadduits pyridinium-mono-indolizines, en présence de KF;
- f. les réactions de cycloaddition 1,3-dipolaire des 4,4'-bipyridinium-ylures avec les alcynes activées non-symétriques sont des réactions régiospécifiques, l'atome de carbone de l'ylure possédant un caractère nucléophile réagissant avec l'atome de carbone le plus électrophile de l'alcyne. Un seul régioisomère, est isolé et a été identifié par des expériences RMN 2D homo et hétéronucléaires;
- g. en vue de l'extension des méthodes de synthèse des cycloadduits pyridinium-monoindolizines aux tendances actuelles de la „chimie verte”, on a étudié la réaction de cycloaddition des sels non-symétriques avec le propiolate d'éthyle, en phase solide, sous irradiation avec des micro-ondes, les résultats sont prometteurs: rendements élevés (71-85%), temps de réactions réduits (10 min) et purification simplifiée;
- h. la structure des composés nouvellement synthétisés a été prouvée par microanalyse et analyses spectroscopiques (¹H-RMN, ¹³C-RMN, COSY, NOESY, HMBC, HMQC; IR; SM);
- i. la présence dans la structure des cycloadduits d'un sel de pyridinium, a conduit à l'augmentation de leur solubilité dans des solvants polaires et plus spécialement dans l'eau, ce qui a permis pour la première fois de tester les propriétés de ces composés dans des systèmes biologiques;

- j. les composés synthétisés se sont montrés posséder des propriétés optiques intéressantes, en particulier des propriétés fluorescentes, qui ont fait l'objet d'une étude ultérieure détaillée.
- 3. L'introduction dans la molécule du groupement *para*-nitro-phenoxy-carbonyl peut permettre la fonctionnalisation ultérieure des cycloadduits indoliziniques dans le but de leur greffage sur des biomolécules:
 - a. il a ainsi été réalisé pour la première fois dans le cas des systèmes indoliziniques, l'introduction d'une fonction amide en position 1 du noyau indolizine, avec des effets positifs sur l'augmentation de leur solubilité et avec le maintien des propriétés fluorescentes;
 - b. l'introduction d'une nouvelle fonction a été faite en remplaçant le groupement mobile 4-nitro-phenoxy avec une diamine aliphatique;
 - c. il a été ainsi synthétisé une série de 4 nouvelles indolizines 1-amido-3-substituées, conservant dans la position 7 du noyau indolizine le reste N-méthyl-pyridinium;
 - d. la structure des composés nouvellement synthétisés a été vérifiée par analyses spectroscopiques (RMN, IR, SM);
 - e. le principe de cette réaction peut être élargi dans le futur à la fixation des systèmes indoliziniques sur des biomolécules (oligopeptides, protéines, etc.) en vue de leur utilisation comme marqueurs fluorescents.
- 4. L'étude des propriétés acido-basiques des sels quaternaires symétriques et non-symétriques, nous conduit aux conclusions suivantes:
 - a. les sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium présentent le comportement des acides faibles (K_a 10^{-9} - 10^{-5}) dans la réaction avec les bases inorganiques;
 - b. les 4,4'-bipyridinium-ylures, bases conjuguées des sels respectifs, ont un caractère basique et nucléophile, pouvant réagir avec les acides minéraux;
 - c. les valeurs de pK_a des sels sont en forte corrélation avec la basicité des ylures; plus la valeur pK_a est moins faible plus la basicité de l'ylure est petite et l'ylure présente un degré de stabilité plus grand;
 - d. l'acidité des sels et respectivement la basicité des ylures sont dépendantes de la nature des substituants liés au carbone ylurique, les substituants électro-attracteurs réduisent la basicité des ylures par la

délocalisation augmentée de la charge du carbanion déterminant l'augmentation de leur stabilité;

- e. la variation de la couleur des sels en fonction du pH, par l'apparition de la structure amphionique dans milieu basique, rend possible l'utilisation des sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium comme indicateurs acido-basiques dans les réactions de neutralisation.

5. Tenant compte qu'un des objectifs de la thèse a été la synthèse des composés biologiquement actifs on a étudié l'activité microbiologique des sels diquaternaires symétriques et non-symétriques de 4,4'-bipyridine ainsi que celle des cycloadduits pyridinium-indoliziniques, établissant les conclusions suivantes:

- a. les sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium, symétriques ou non-symétriques, présentent une activité antibactérienne intense (spécialement contre *Bacillus Subtilis* et *Sarcina Lutea*) et antifongique (surtout contre l'espèce *Aspergillus*), aux concentrations assez faibles, ainsi que une inhibition modérée de la croissance des levures;
- b. pour la première fois, dans la littérature, on a mis en évidence l'activité antimicrobienne (antibactérienne et partiellement antifongique) d'un dérivé pyridinium-indolizine, nouvellement synthétisé;
- c. l'activité biologique des composés testés pourrait être expliquée par leur structure ionique, étant en même temps favorisée par leur solubilité dans l'eau;
- d. la nature de substituants en position *para* des noyaux aromatiques des composés étudiés n'influence pas de façon décisive leur activité biologiques, ceci affectant surtout la sélectivité;
- e. les composés étudiés présentent des effets bactéricides contre une des bactéries et champignons qui peuvent contaminer les matières premières et les ustensiles de l'industrie alimentaire, ce qui suggère la possible utilisation de ces produits dans ce domaine d'activité;

6. L'étude des propriétés électriques et optiques des sels diquaternaires du 4,4'-bipyridine et des cycloadduits indoliziniques, conduit aux conclusions suivantes:

- a. les nouveaux sels diquaternaires de 4,4'-bipyridinium ainsi que les pyridinium-indolizines synthétisées, en couche mince présentent les caractéristiques typiques des semi-conducteurs de type n, avec structure polycristalline;

- b. pour la première fois, ont été étudiées avec des résultats prometteurs, les propriétés électriques et optiques d'un cycloadduit indolizinique dérivé du 4,4'-bipyridine;
 - c. le transport électronique (la conduction électrique et les propriétés thermoélectriques) dans les composés étudiés est fortement influencé par leur structure moléculaire, qui favorise une conjugaison étendue, de leur capacité d'empaquetage, qui permet une configuration planaire, ainsi que de la morphologie des films;
 - d. le mécanisme de transfert des électrons dans les sels organiques étudiés peut être expliqué à la base du „modèle de la conduction en bandes”, spécifique en général pour les composés organiques;
 - e. la largeur optique de la bande interdite directe des composés étudiés se trouve dans l'intervalle 3.78-4.00 eV;
 - f. les composés organiques examinés sont prometteurs pour les applications technologiques comme thermistors.
7. L'étude des propriétés luminescentes des cycloadduits indoliziniques synthétisés **(12a-d)**, **(15a,c)** și **(16a,c)** a conduit aux conclusions suivantes:
- a. les cycloadduits indoliziniques synthétisés, de type **(12a-d)** ou **(16a-d)**, présentent d'intéressantes propriétés fluorescentes en solution dans des solvants organiques;
 - b. les cycloadduits de la série **(15a-d)** présentent une très faible fluorescence, à cause du reste 4-nitro-phénoxy-carbonyl, et pour ça ne présente pas d'intérêt pour la spectroscopie de fluorescence;
 - c. tous les composés étudiés présentent un spectre continu d'absorption, non structuré, ce qui suggère une conformation non-planaire dans l'état fondamental que dans l'état excité;
 - d. les solvants aprotiques (du type chloroforme) ont un effet bathochrome sous la bande d'absorption S_1 , alors que les solvants protiques, polaires n'ont pas une influence significative;
 - e. les rendements de fluorescence des composés étudiés sont semblables à ceux des bis-indolizines avec des structures comparables, mais ne sont pas influencés par la nature du solvant dans lequel on fait l'analyse, ainsi que de la nature des substituants présents dans la structure des composés;

- f. dans les spectres de fluorescence, les solvants n'ont pas une grande influence sur la longueur d'onde du maximum d'émission, mais ils ont une influence importante sur l'intensité du maximum de la fluorescence. Ainsi, dans les solvants protiques la fluorescence est plus élevée que dans les solvants aprotiques non-polaires ou moins polaires, de type chloroforme. En même temps, on peut constater un déplacement hypsochrome du maximum de fluorescence, dans les solvants aprotiques (chloroforme);
- g. la présence sur le noyau phényle des substituants donneurs d'électrons (OCH_3), provoque un déplacement bathochrome des spectres de fluorescence, et l'intensité de la fluorescence est plus élevée, tandis que les substituants électron-accepteurs (nitro) même s'ils provoquent aussi un déplacement bathochrome des spectres de fluorescence, ont un effet de "quenching" de fluorescence conduisant à la diminution du φ_f , dans tous les composés où ils sont présents (**12d**, **15a** et **15c**) ainsi qu'à la diminution des caractéristiques absorbantes, pour les composés (**15a**, **c**);
- h. les spectres d'absorption et d'émission sont influencés par le pH du milieu d'analyse, au pH basique fort a lieu un déplacement bathochrome du maximum de la bande d'absorption accompagné d'une diminution de l'absorption ainsi qu'un déplacement bathochrome important du maximum de la bande d'émission accompagné d'une extinction presque totale de la fluorescence dans des solutions fortement basiques;
- i. les spectres d'absorption et d'émission ont permis la mise en évidence d'une forte interaction entre l'ADN et les fluorophores étudiés, qui se manifeste par une extinction de leur fluorescence, à l'augmentation du rapport molaire ADN:fluorophore, qui atteint le maximum à environ 10 équivalents p.b. (paires de bases) ADN;
- j. la nature de l'interaction n'a pas été complètement élucidée, étant suggérée une combinaison entre les interactions de type électrostatiques au niveau du reste cationique N-méthyl-pyridinium et d'intercalation au niveau du noyau indolizinique, plan;
- k. l'interaction avec l'ADN se manifeste aussi dans les conditions physiologiques d'analyse (pH 7, NaCl 100 mM) et par conséquent on peut proposer l'utilisation de ces composés comme marqueurs fluorescents dans différentes analyses biochimiques et biologiques.

8. L'étude des propriétés antioxydantes des cycloadduits indoliziniques pyridinium-indoliziniques de type **(12)**, ont mis en évidence les conclusions suivantes:

- a. a été réalisée pour la première fois l'étude des propriétés antioxydantes des quelque cycloadduits mono- et bis-indolizines dérivés de la 4,4'-bipyridine, par réactions de cycloaddition;
- b. on a constaté que la pyridinium-indolizine **(12b)** présente une activité inhibitrice sur la peroxydation *in vitro* des lipides des huiles végétales, supérieure à celle du β -carotène, et satisfaisante par rapport à celle du propyl-galate, antioxydants usuels utilisés dans l'industrie alimentaire.

Une partie des résultats présentés dans cette thèse a constituée le sujet de 9 travaux⁽²⁹¹⁻²⁹⁹⁾ publiés ou en cours de publication dans des revues de spécialités nationales et étrangères ou dans les volumes de certains symposiums nationaux ou internationaux et de 5 communications⁽³⁰⁰⁻³⁰⁴⁾ présentés aux conférences nationales ou internationales.

En perspective, on se propose de continuer les recherches présentées dans cette thèse, dans les directions générales suivantes:

- essayer d'élargir les réactions de cycloaddition [3+2]-dipolaires des sels de 4,4'-bipyridinium avec d'autres dipolarophiles, en vue de la synthèse de nouveaux composés hétérocycliques;
- réalisation de nouvelles fonctionnalisations des systèmes indoliziniques en vue de la modulation des propriétés fluorescentes ainsi que de leur greffage sur des biomolécules (oligopéptides, protéines etc.) en vue de leur utilisation comme marqueurs fluorescents dans les analyses biologiques;
- l'étude de la possibilité de réalisation des structures dimères entre les cycloadduits indoliziniques et autres hétérocycles (par exemple, acridines) en vue de leur utilisation dans buts thérapeutiques (ex.: maladie Alzheimer).

BIBLIOGRAPHIE

1. B. Emmert, N. Roth – *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, B 58, 503, **1925**;
2. O. Dimroth, R. Heene - *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, B 54, 2934, **1921**;
3. O. Dimroth, F. Frister, C.R. Smith – *J. Am. Chem. Soc.*, 46, 414, **1922**;
4. B. Emmert, J. Stawitz - *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, B55, 83, **1922**;
5. J.-C. Plaquevert, I. Chichaoui – *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 133, 369, **1996**;
6. W. J. Albury, M. J. Eddowes, H. A. O. Hill, A. R. Hillmann - *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 3904, **1981**;
7. D. S. Wutke, H. B. Gray - *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 8455, **1993**;
8. Z. T. Li, G. Z. Ji, S. D. Yuan, S. D. Du, A. L. Ding, M. Wei – *Tetrahedron Lett.*, 39, 6517, **1998**;
9. R. Blonder, L. Sheeney, I. Willner – *Chem. Commun.*, 1393, **1998**;
10. M. J. Gunter, T. P. Jeyenes, M. R. Johnston, P. Turner, Z. Chen – *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1945, **1998**;
11. J. Zhou, Y. Hu, H. Hu – *Chem. Commun.*, 28(18), 3397, **1998**;
12. A. J. Fry, S. B. Sobolov, D. Leonida, K. I. Voivodov – *Tetrahedron Lett.*, 31, 5607, **1994**;
13. A. E. Rowan, P.P.M. Aarts, K.W.R. Koutstaal – *Chem. Commun.*, 611, **1998**;
14. M. B. Nielsen, N. Thorup, J. Becker - *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1305, **1998**;
15. P. Jensen, S. R. Batten, B. Moubaraki, K. S. Murray - *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 3712, **2002**;
16. J. Weng, M. Hong, Q. Shi, R. Cao, A.S.C. Chan – *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2553, **2002**;
17. M. J. Rauterkus, S. Fakih, C. Mock, I. Puscasu, B. Krebs – *Inorganica Chimica Acta*, 350, 355, **2003**;
18. K. Sakai, K. Okamoto, S. Takahashi, K. Yokokawa – *Acta Crystallographica Section E*, E59, 917, **2003**;
19. D. M. Jewett, M. R. Kilbourn – *J. Label Compd. Radiopharm*, 45, 281, **2002**;
20. D.-J. Feng, X.-Q. Li, X.-Z. Wang, X.-K. Jiang, Z.-T. Li – *Tetrahedron*, 60, 6137, **2004**;
21. H. Scheytza, H.-U. Reissig – *Tetrahedron*, 55, 4709, **1999**;

22. J. W. Park, S. Y. Lee – *J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 47, 143, **2003**;
23. Ghe. Surpățeanu, L. Departure, S. Fourmentin-Lamotte – *Europ. Polym. Journal*, 35, 663, **1999**;
24. L. Cen, K.G. Neoh, E. T. Kang – *Biosensors and Bioelectronics*, 18, 363, **2003**;
25. S. A. John, F. Kitamura, K. Tokuda, T. Ohsaka – *J. of Electroanalyt. Chem.*, 492, 137, **2000**;
26. S. Pellet-Rostaing, J.P. Regnouf de Vains, R. Lamartine – *Tetrahedron Lett.*, 36(32), 5745, **1995**;
27. G. Ferguson, J.N. Low, M. Quiros-Olozabar, J. M. Salas-Peregrin, F. Hueso-Urena, M. N. Moreno-Carretero – *Polyhedron*, 15 (19), 3233, **1996**;
28. B. Cathala, K. Raouf-Benchekroun, C. Galaup, C. Picard, L. Cazaux, P. Tisnes – *Tetrahedron*, 52 (29), 9793, **1996**;
29. M. Alvaro, H. Garcia, S. Garcia, L. Fernandez – *Tetrahedron Lett.*, 37 (16), 2873, **1996**;
30. K. I. Priyadarsini, M. F. Dennis, M. A. Naylor, R. L. Stratford, P. Wardman – *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 5648, **1996**;
31. T. Umemoto, M. Nagayoshi, K. Adachi, G. Tomizawa – *J. Org. Chem.*, 63, 3379, **1998**;
32. R. Castro, L. A. Godinez, C. M. Criss, A. E. Kaifer – *J. Org. Chem.*, 62, 4928, **1997**;
33. I. Tabushi, A. Yazaki – *Tetrahedron*, 37 (24), 4185, **1981**;
34. I. Druță, E. Avram, V. Cozan – *European Polymer Journal*, 36, 221, **2000**;
35. R. Dinică, I. Druță, C. Pettinari – *Synlett*, 7, 1013, **2000**;
36. A. V. Rotaru, R. P. Dănac, I. Druță – *J. Heterocyclic Chem.*, 41, 893, **2004**;
37. N. C. Lungu, A. Depret, F. Delattre, G. G. Surpățeanu, F. Cazier, P. Woisel, P. Shirali, Ghe. Surpățeanu – *J. of Fluorine Chem.*, 126, 385, **2005**;
38. T. Weide, L. Arve, H. Prinz, H. Waldmann, H. Kessler – *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 16, 59, **2006**;
39. A. I. Nasir, L.-L. Gundersen, F. Rise, O. Antonesen, T. Kristensen, B. Langhelle, A. Bast, I. Custers, G.R.M.M. Haenen, H. Wikstrom – *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 8, 1829, **1998**;

40. J. Gubin, H. de Vogelaer, H. Inion, C. Houben, J. Lucchetti, J. Mahaux, G. Rosseels, M. Peiren, M. Clinet, P. Polster, P. Chatelain – *J. Med. Chem.*, 36, 1425, **1993**;
41. S. Teklu, L.-L. Gundersen, F. Rise, M. Tilset – *Tetrahedron*, 61, 4643, **2005**;
42. H. Chai, J. G. Bretenbucher, A. Kewk, X. Li, V. Wong, N. Carruthers et al. – *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 13, 1767, **2003**;
43. L.-L. Gundersen, K. E. Malterud, A. H. Negussie, F. Rise, S. Teklu, O. B. Ostby - *Bioorg. & Med. Chem.*, 11, 5409, **2003**;
44. R. Millet, J. Domarkas, B. Rigo, L. Goossens, J.-F. Goossens, R. Houssin, J.-P. Henichart - *Bioorg. & Med. Chem.*, 10, 2905, **2002**;
45. S.P. Gupta, A. N. Mathur, A. N. Nagappa, D. Kumar, S. Kumaran – *Europ. Journal of Med. Chem.*, 38, 867, **2003**;
46. S. Hagishita, M. Yamada, K. Shirahase, T. Okada et al. – *J. Med. Chem.*, 39, 3636, **1996**;
47. P. Iouwet, P. Dallemagne et al. - *Bioorg. & Med. Chem.*, 8, 945, **2000**;
48. Y. Li, H.-Y. Hu, J.-P. Ye, H.-K. Fun, H.-W. Hu, J.-H. Xu – *J. Org. Chem.*, 69, 2332, **2004**;
49. Y. Shen, Y. Zhang, G. F. Jiang – *Synthesis*, 714, **2002**;
50. H. Sonnenschein, G. Hennrich, U. Resch-Genger, B. Schulz – *Dyes and Pigments*, 46, 23, **2000**;
51. T. Troll, H. Beckel, C. Lentner-Bohm – *Tetrahedron*, 53 (1), 81, **1997**;
52. J. Fischer, L. A. Summers – *J. Heterocyclic Chem.*, 17, 333, **1980**;
53. A. Katrizky – *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 35, 281, **1984**;
54. D. C. Allport – *British Patent*, 1.130.551, **1968** [*C.A.* 70, 28832, **1969**];
55. J. A. Barltrop, A.C. Jackson – *J.Chem. Perkin Trans. II*, 367, **1984**;
56. J. H. Ross, R. I. Krieger – *J. Agric. Food Chem.*, 28, 1026, **1980**;
57. Y. Amao, T. Kamachi, I. Okura – *J. of Photochem. And Photobiology A: Chemistry*, 98, 59, **1996**;
58. I. Druță, L. Smău, C. Cuceac, R. Dinică – *Ann. Șt. Univ. Al. I. Cuza – Iași*, tom IIIs, 117, **1995**;
59. A. Rotaru, R. Dănac, I. Druță, G. Drochioiu, I. Crețescu – *Rev. Chimie*, 56, 2, 179, **2005**;
60. M. Irimia, G. Lisa, R. Dănac, N. Aelenei, I. Druță – *Croatica Chimica Acta*, 77, 587, **2004**;

61. J. E. Colchester – *British Patent*, 1.189.084, **1970** [*C.A.* 85, 78014, **1976**];
62. E. M. Kosover, J. L. Cotter – *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 5524, **1964**;
63. T. Saika, T. Iyoda, T. Shimidzu – *Chem. Lett.*, 1955, **1990**;
64. M. Kawamura – *Jpn. Patent* 02.164.898, **1990** [*C.A.* 113, 221499, **1990**];
65. M. Seiller, H. Durr – *Synthesis*, 83, **1994**;
66. O. Johansen, A. Launukonis – *Aust. J. Chem.*, 34, 981, **1981**;
67. W. Silva – *Heterocycles*, 32, 11, **1991**;
68. V. Novakovic – *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 2341, **1987**;
69. L. Michaelis - *J. Am. Chem. Soc.*, 55, 1489, **1933**;
70. Y. Osada, Y. Iriyama - *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 2925, **1982**;
71. J. G. Caray – *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2431, **1977**;
72. G. E. Chivers, H. Suschitzky – *J. Chem. Soc. C*, 2867, **1971**;
73. J. Ychikawa – *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 61, 2923, **1988**;
74. F. Adams – *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 28, 1060, **1989**;
75. M. Fujihira – *Thin. Solid Film*, 79, 471, **1989** [*C.A.* 112, 148794, **1990**];
76. J. S. Lindsey – *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 3610, **1988**;
77. J. D. Batteas - *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 126, **1990**;
78. E.E. Batova – *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* 305 (5), 1131, **1989** [*C.A.* 112, 108313, **1990**];
79. I. Tabuschi – *Tetrahedron Lett.*, 21, 373, **1980**;
80. J. S. Lindsey – *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 3659, **1988**;
81. J. K. Hurley - *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2670, **1988**;
82. J. Canebron, V. Heitz – *Tetrahedron Lett.*, 36 (51), 9321, **1995**;
83. H. Hosono, M. Kaneko – *J. of Photochem. And Photobiolog. A: Chemistry*, 107, 63, **1997**;
84. I. D. Battes – *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 2341, **1987**;
85. I. D. Battes – *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 1330, **1989**;
86. E. Adar – *J. Am. Chem. Soc.*, 108, 4696, **1986**;
87. B. Odel – *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 27, 1547, **1988**;
88. M. J. Gunter, M. R. Johnston – *Tetrahedron Lett.*, 33 (13), 1771, **1992**;
89. Z.-T. Li, X.-L. Zhang, X.-D. Lian, Y.-H. Yu, Y. Xia et al.- *J. Org. Chem.*, 65, 5136, **2000**;
90. S. Takenaka, M. Takagi – *Recent Res. Devel. In Pure & Applied Chem.*, 1, 159, **1997**;

91. S. Takenaka, T. Ihara, M. Takagi – *Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1485, **1990**;
92. Z. H. X. Liang – *J. Macromol. Sci. Chem. A*, 27 (6), 699, **1990**;
93. D. K. Smith, L. M. Tender, A. L. Gregg, S. Licht, M.S. Wrighton – *J. Am. Chem. Soc.*, 111, 1099, **1989**;
94. H. Kamogawa – *J. Polim. Chem.*, 22, 383, **1984**;
95. H. Kamogawa – *J. Polim. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, 17, 3149, **1979**;
96. P. Tundo – *Angew. Chem.*, 94, 73, **1982**;
97. K. Ageishi, T. Endo, M. Okawara – *J. Polim. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, 21, 175, **1983**;
98. N. Kitamura, Y. Nambu, T. Endo – *J. Polim. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, 28, 345, **1990**;
99. H. Kamogawa, K. Kikushima, M. Nanasawa – *J. Polim. Sci.: Polym. Chem. Ed.*, 27, **1989**;
100. E.C. Buruiană, I. Diaconu, T. Buruiană, G. E. Grigoriu, A. Caraculacu – *Angew. Chem.*, 187, 51, **1991**;
101. S. Huning – *Justus Liebigs Ann. Chem*, 727, **1979**;
102. F. Kronhke – *Chem. Ber.*, 68, 1177, **1935**;
103. I. Druță, R. Dinică, E. Băcu, I. Humelnicu – *Tetrahedron*, 54, 10811, **1998**;
104. C. Cuceac – *Teză de doctorat*, Iași, **2003**;
105. L. Departure, Ghe. Surpățeanu – *Spectrochimica Acta Part A*, 59, 3029, **2003**;
106. A. Padwa, U. Chiacchio, M.K. Wenkataramanou – *J. Chem. Soc. Commun.* 1108, **1985**;
107. H. Strub, C. Strehler, J. Streith – *Chem. Ber.*, 120, 355, **1987**;
108. A. Rotaru – *Teză de doctorat*, Iași, **2005**;
109. R. Dinică – *Teză de doctorat*, Iași, **1999**;
110. F. Delattre, P. Woisel, Ghe. Surpățeanu, M. Bria, F. Cazier, P. Decock – *Tetrahedron*, 60, 1557, **2004**;
111. Y. Tamura, Y. Miki, M. Ideda – *J. Heterocycl. Chem.*, 23, 447, **1974**;
112. G. Surpățeanu, P. Decock, N. Avarvari – *Iranian. Polym. J.* 5(3), 193, **1996**;
113. J. Cossy, C. Willis, V. Bellosta, L. S. Jalmes – *Synthesis*, 951, **2002**;
114. M. Diederich, V. Nubbemeyer – *Synthesis*, 286, **1999**;
115. P. Chalard, R. Rumeson, Y. G. Mialke, J. C. Gramain, I. Canet – *Tetrahedron Lett.*, 20, 1661, **1999**;

116. S. H. Park, H. Kang, S. Ko, S. Park, S. Chang – *Tetrahedron Assym.*, 12, 2621, **2001**;
117. T. Uchida, K. Matsumoto – *Synthesis*, 209, **1976**;
118. F. T. Swinbourne, J. Hunt, K. Klinkert in *Adv. in Het. Chem.*, eds. A.R. Katrisky, A. Y. Boulton, Academic Press, New York, vol 23, 103, **1978**;
119. W. Flitsch in *Comprehensive Heterocyclic Chem.*, eds. A. R. Katrisky, C. W. Rees, Pergamon, Oxford, 4, 476, **1984**;
120. C. Broggini, C. Zecchi – *Synthesis*, 905, **1999**;
121. A. Padwa, D. J. Austin, L. Precedo, L. Zhi – *J. Org. Chem.*, 58, 1144, **1993**;
122. J. M. Takacks, J. J. Weidner, B. E. Takacks – *Tetrahedron Lett.*, 34, 6219, **1993**;
123. M. Scholz – *Ber.*, 45, 734, **1912**;
124. N. S. Prostakov, O. B. Baktibaev – *Khim. Geterotsikl Soed.*, 1220, **1972**;
125. W. Flitsch, E. Gerstmann – *Chem. Ber.*, 105, 2344, **1972**;
126. T. Melton, J. Taylor, D. G. Wibberley – *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 151, **1965**;
127. F. W. Krock, F. Khronke – *Chem. Ber.*, 102, 659, **1969**;
128. A. E. Tschischibabin – *Ber.*, B60, 1607, **1927**;
129. E. E. Glover, K. D. Vaughan, D. C. Bishop – *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 25995, **1973**;
130. W. Chai, A. Kwok, V. Wong, N. I. Carruthers, J. Wu – *Synlett*, 13, 2086, **2003**;
131. A. R. Katrisky, G. Qui, B. Yang, H.-Y. He – *J. Org. Chem.*, 64, 7618, **1999**;
132. A. Kakehi, S. Ito, K. Watanabe, M. Kitegawa, S. Takenchi, T. Hashimoto – *J. Org. Chem.*, 45, 5100, **1980**;
133. J. Hurst, T. Melton, D. G. Wibberley – *J. Chem. Soc.*, 2948, **1965**;
134. T. Melton, D. G. Wibberley – *J. Chem. Soc. C*, 983, **1967**;
135. W. Kiel, F. Kromke – *Chem. Ber.*, 105, 3709, **1972**;
136. J. Gubin, J. Lucchetti, J. Mahaux, D. Nisato, G. Rosseels, M. Clinet, P. Polster, P. Chatelain – *J. Med. Chem.*, 35, 981, **1992**;
137. E. I. Kostik, A. Abiko, A. Oku – *J. Org. Chem.*, 66, 2618, **2001**;
138. A. S. Jorgensen, P. Jacobsen, L. B. Christiansen, P. S. Bury, et al. – *Bioorg & Med. Chem. Lett.*, 10, 2383, **2000**;
139. O. Diels, R. Meyer – *Ann.*, 513, 129, **1934**;

140. G. Caronna, S. Palazzo – *Atti. Accad. Sci. Lett.*, Arti Palermo, Parte I, 5, 30, **1969-1970**;
141. E. Van Tamelen, P. Aldrich, P. Bender, D. Miller – *Proc. Chem. Soc.*, 309, **1959**;
142. A. Crabtree, A. W. Johnson, J. C. Tebby – *J. Chem. Soc.*, 3497, **1961**;
143. R. M. Acheson, D. A. Robinson – *J. Chem. Soc. C*, 1633, **1968**;
144. A. Padwa – *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, vol. I, Interscience, New York, **1984**;
145. I. Zugrăvescu, M. Petrovanu – *Chimia N-ilidelor*, Ed. Academiei, București, **1974**;
146. T. Sasaki, K. Kanematsu, Y. Yukimoto, S. Ochiai – *J. Org. Chem.*, 36, 6, 813, **1971**;
147. K. Matsumoto, Y. Ikemi, H. Konishi, X-I. Shi, T. Uchida – *Heterocycles*, 27, 11, 2557, **1988**;
148. A. Padwa, D.J. Austin, L. Precedo, L. Zhi – *J. Org. Chem.*, 58, 1144, **1993**;
149. K. Sarkunam, M. Nallu – *J. Heterocyclic Chem.*, 42, 5, **2005**;
150. E. V. Babaev, K. Yu. Pasichnichenko, V. B. Rybakov, S. G. Zhukov – *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 36, 10, **2000**;
151. F. Delattre, P. Woisel, Ghe. Surpățeanu, F. Cazier, P. Blach – *Tetrahedron*, 61, 3939, **2005**;
152. O. Tsuge, S. Kanemasa, S. Takenaka – *J. Org. Chem.*, 51, 1853, **1986**;
153. X. Wei, Y. Hu, T. Li, H. Hu – *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 2487, **1993**;
154. J. Zhou, Y. Hu, H. Hu – *J. Chem. Research (S)*, 136, **1999**;
155. X. Zhang, W. Cao, X. Wei, H. Hu – *Synthetic Commun.*, 27(8), 1395, **1997**;
156. B. Wang, X. Zhang, J. Li, X. Jiang, Y. Hu, H. Hu – *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*, 1571, **1999**;
157. L. Zang, F. Liang, L. Sun, Y. Hu, H. Hu – *Synthesis*, 12, 1733, **2000**;
158. S.-Z. Zhu, C.-Y. Qin, Y.-L. Wang, Q.-L. Chu – *J. of Fluorine Chem.*, 99, 183, **1999**;
159. W. M. Peng, S. Z. Zhu - *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 3204, **2001**;
160. X.-C. Zhang, W.-Y. Huang - *J. of Fluorine Chem.*, 92, 13, **1998**;
161. X. Fang, Y.-M. Wu, J. Deng, S.-W. Wang – *Tetrahedron*, 60, 5487, **2004**;
162. K. Matsumoto, A. Ogasawara, S. Kimura, N. Hayashi, T. Machiguchi – *Heterocycles*, 48, 5, **1998**;

163. S. Zhao, M.G.P.M.S. Neves, A. Come, A. M.S. Silva, J. A. S. Cavaleiro – *Tetrahedron Lett.*, 46, 5487, **2005**;
164. I. Druță, M. Andrei, P. Aburel - *Tetrahedron*, 55, 13063, **1999**;
165. I. Druță, M. Andrei, P. Aburel - *Tetrahedron* 54, 2107, **1998**;
166. R. Dănac, A. Rotaru, G. Drochioiu, I. Druță – *J. Heterocyclic Chem.*, 40, 283, **2003**;
167. H. Quast, A. Galleri - *Justus Liebigs Ann.Chem.* 929, **1975**;
168. A.R. Katritzki, W.K. Young, R.C. Patel, K. Burgess - *Heterocycles* 20,4, **1983**;
169. R. Huisgen - *Angew. Chem.* 92, 979, **1980**;
170. T. Tsuchiza, M. Kato, H. Sashida - *Chem.Farm.Bull.* 32, 4666, **1984**;
171. M. L. Bode, P. T. Kaye, R. George – *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 3023, **1994**;
172. R. Settambolo, S. Savi, A. Caiazzo, R. Lazzaroni – *J. of Organomet. Chem.*, 619, 241, **2001**;
173. R. Settambolo, A. Caiazzo, R. Lazzaroni – *Tetrahedron Lett.*, 42, 4045, **2001**;
174. T. Peglow, S. Blechert, E. Steckhan – *Chem. Eur. J.*, 4, 1, **1998**;
175. D. H. Wadsworth, C. H. Weidner, S. L. Bender, R. H. Nuttall, H. R. Luss – *J. Org. Chem.*, 54, 3652, **1989**;
176. C. H. Weidner, F. M. Michaelis, D. J. Beltman, C. J. Montgomery – *J. Org. Chem.*, 56, 5594, **1991**;
177. H. Sonnenschein, H. Kosslick, F. Tittelbach – *Synthesis*, 1596, **1998**;
178. R. J. Hodkiss, R. W. Middleton, J. Parrick, H. Rami, P. Wardman, G. D. Wilson – *J. Med. Chem.*, 35 (10), 1920, **1992**;
179. A. Katrisky, D. Tymoshenko, D. Monteux, V. Vvedensky et al. – *J. Org. Chem.*, 65, **2000**;
180. D. A. Goff – *Tetrahedron Lett.*, 40, 8741, **1999**;
181. R. Dinică, C. Pettinari – *Heterocycl. Comm.*, 07(4), 381, **2001**;
182. U. Bora, A. Saikia, R. C. Boruah – *Organic Lett.*, 5 (4), 435, **2003**;
183. A. Rotaru, I. Druță, T. Oeser, T. Muller – *Helv. Chim. Acta*, 88, 1798, **2005**;
184. L. A. Summers – *Adv. in Het. Chem.*, 282, 35, **1984**;
185. L. A. Summers – *The Bipyridinium Pesticides*, Acad. Press, London, 189, **1980**;
186. E. M. Conwell, H. A. Mizes – *Handbook of Semiconductors*, vol. I, T. S. Moss Ed., Amsterdam, **1992**;
187. H. Rheinboldt, M. Perrier – *J. Am. Chem. Soc.*, 69, 3148, **1947**;

188. H. C. Brown, G. C. Pai – *J. Org. Chem.*, 50, 1384, **1985**;
189. A. Liljeblad, R. Aksela, L. T. Kanerva – *Tetrahedron: Assym.*, 12, 2059, **2001**;
190. I. Druță, R. Dinică, D. Tănase – *Ann. St. Univ. „Al. I. Cuza” Iași*, tom IIIs, chimie, 124, **1995**;
191. I. Druță, C. Cuceac, R. Dănac, E. Avram, A. Rotaru, G. Drochioiu – *Pakistan Journal of Applied Science*, 2(2), 145, **2002**;
192. A. Vlahovici, M. Andrei, I. Druță – *J. of Luminescence*, 96, 279, **2002**;
193. I. Mangalagiu, I. Druță, M. Constantinescu, I. Humelnicu, M. Petrovanu – *Tetrahedron*, 52, 8853, **1996**;
194. Șt. Dima, Ghe. Zbangioc, I. Mangalagiu – *J. Serb. Chem. Soc.*, 71(2), 103, **2006**;
195. Șt. Dima, I. Mangalagiu, M. Caproșu, M. Petrovanu, P.L. Georgescu – *Rev. Roum. de Chimie.*, 45(6), 555, **2001**;
196. E. Bialecka-Florjanczyk – *Synthetic Commun.*, 30(24), 4417, **2000**;
197. K. D. Raner, C. R. Strauss, F. Vyskoc, L. Mokbel – *J. Org. Chem.*, 58, 950, **1993**;
198. S. Deshayes, . Liagre, A. Loupy, J.-L. Luche, A. Petit – *Tetrahedron*, 55, 10851, **1999**;
199. A. Loupy, A. Petit, J. Hamelin, F. Texier-Boullet, P. Jacquault, D. Mathe – *Synthesis*, 1213, September, **1998**;
200. L. Perreux, A. Loupy – *Tetrahedron*, 57, 9199, **2001**;
201. P. Lidstrom, J. Tierney, B. Wathey, J. Westman – *Tetrahedron*, 57, 9225, **2001**;
202. A. Loupy, F. Maurel, A. Sabatie-Gogova – *Tetrahedron*, 60, 1683, **2004**;
203. D. Villemin, B. Martin, M. Khalid – *Synthetic Commun.*, 28(17), 3195, **1998**
204. D. Villemin, B. Martin – *Synthetic Commun.*, 28(17), 3201, **1998**;
205. M. Sridhar, K.L. Krishna, K. Srinivas, J. M. Rao – *Tetrahedron Lett.*, 39, 6529, **1998**;
206. H. Tanaka, Y. Nishida, Y. Furuta, K. Kobayashi – *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, 12, 1723, **2002**;
207. I. Zugrăvescu, M. Petrovanu – *N-Yilid Chemistry*, Mc Graw-Hill, London, **1976**;
208. A. Speziale, K. W. Ratts – *J. Am. Chem. Soc.*, 85, 2790, **1963**;
209. G. Phillips, W. Ratts – *J. Org. Chem.*, 35, 3144, **1970**;

210. D. J. Pietrzyk, C. W. Frank – *Chimie Analitică*, Ed. Tehnică, București, **1989**;
211. R.N. Asolkar, P. Vijayendra – *J. of Natural Products*, 565, **2002**;
212. Hui Chen, F. Chen – *Biotechn. Lett.*, 22, 715, **2000**;
213. R. Eiller – *Contamin. Hazard Review*, 22, 122, **1990**;
214. A. D. Knauff, D. L. Colvin, D. W. Gorbet – *Weed Technol*, 4(4), 866, **1990**;
215. A. D. Dodge – *Herbicides and Plant Metabolism*, Cambridge University Press, Cambridge, 114, **1989**;
216. A. P. Phillips, J. Mentha – *J. Org. Chem.*, 76, 6393, **1954**;
217. H. C. Beyerman, J. S. Bontekoe – *Recueil*, 74, 1395, **1955**;
218. V. Hagel, B. Gentsch, A. Rumler, G. Faust, D. Lohmann, A. Walter, A. Hagen – *C. A.*, 115, 92087, **1991**;
219. G. Zetterberg, T. Person – *Estrato Bolletino Chim. Farmac.*, 109, 728, **1970**;
220. A. Sion, A. Samuni, M. Chevion – *Biochem. Phramacol.*, 38, 3903, **1989**;
221. I. Druță, C. Cuciac, C. Blănaru, E. Avram – *Ann. St. Univ. „Al. I. Cuza” Iași*, s ch9, 109, **2001**;
222. I. Druță, R. Dinică, E. Băcu, M. Andrei – *Ann. St. Univ. „Al. I. Cuza” Iași*, s ch 6, 19, **1998**;
223. M. Irimia, M. Murariu, N. Aelenei, A. Rotaru, G. Drochioiu – *Roum. Biotech. Lett.*, 8(5-6), 1415, **2003**;
224. A. Rotaru, M. Ungureanu, R. Dănac, A. Poeata, I. Druță- *Ann. Pharm. Fr.*, 62(6), 428, **2004**;
225. P. V. Kumar, V. R. Rao – *Indian Journal of Chem.*, 44B (10), 2120, **2005**;
226. S. Dannhardt, W. Meindl, S. Gousmann, S. Ajili, T. Kappe – *Eur. J. Med. Chem.*, 22(6), 505, **1987**;
227. N. Nestorescu – *Bacteriologie Medicală*, Ed. Medicală, București, **1965**;
228. R. Farchioni, G. Grosso (Eds.) – *Organic Electronic Materials: Conjugated Polymers and Low Molecular Weight Organic Solids*, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, **2001**;
229. C.E. Swenberg, M. Pope – *Electronic Processes in Organic Crystals and Polymers*, 2nd Edition, Oxford Univ. Press, Oxford, **1999**;
230. K. Goser, P. Glosekotter, J. Dienstuhl – *Nanoelectronics and Nanosystems: From Transistors to Molecular and Quantum Devices*, Springer Verlag, Berlin, **2004**;
231. D. Braun – *Mater. Today*, 5(6), 32, **2002**;

232. P. Le Barny, V. Dentan, H. Facoetti, M. Vergnolle, G. Vériot, B. Servet and D. Pribat – *C. R. Acad. Sci. IV-Phys.*, 1(4), 493, **2000**;
233. M.C. Tanese, D. Fine, A. Dodabalapur and L. Torsi – *Biosensors and Bioelectron.*, 21(5), 782, **2005**;
234. M. Turbiez, P. Frere, M. Allain, C. Videlot, J. Ackermann, J. Roncali – *Chem.-A Eur. J.*, 11(12), 3742, **2005**;
235. V. Saxena and B.D. Malhotra – *Curr. Appl. Phys.*, 3(2-3), 293, **2003**;
236. H. Zhang, Y. Wang, K. Shao, Y. Liu, S. Chen, W. Qiu, X. Sun, T. Qi, Y. Ma, G. Yu, Z. Su, D. Zhu – *Chem. Commun.*, 7, 755, **2006**;
237. A. Dodabalapur – *Mater. Today*, 9(4), 24, **2006**;
238. H. Jia, G.K. Pant, E.K. Gross, R.M. Wallace and B.E. Gnade – *Org. Electron.*, 7(1), 16, **2006**;
239. N. Stingelin-Stutzmann, E. Smits, H. Wondergem, C. Tanase, P. Blom, P. Smith, Dago de Leeuw – *Nat. Mater.*, 4(8), 601, **2005**;
240. A.-R. Hyun, J.-H. Lee, I.-N. Kang and J.-W. Park – *Thin Solid Films*, 509(1-2), 127, **2006**;
241. C.C. Oey, A.B. Djurišić, C.Y. Kwong, C.H. Cheung, W.K. Chan, J.M. Nunzi and P.C. Chui – *Thin Solid Films*, 492(1-2), 253, **2005**;
242. A. Pron and P. Rannou – *Progr. Polymer Sci.*, 27(1), 135, **2002**;
243. S.-W. Oh, H.W. Rhee, Y.C. Kim, J.K. Kim and J.-W. Yu – *Curr. Appl. Phys.*, 6(4), 739, **2006**;
244. C.J. Brabec, N.S. Sariciftci, J.C. Hummelen – *Adv. Funct. Mater.*, 11, 15, **2001**;
245. V.I. Arkhipov, I.I. Fishchuk, A. Kadashchuk, H. Baessler, in: G. Lanzani (Ed.) – *Photophysics of Molecular Materials*, Wiley, Weinheim, 261-366, **2006**;
246. J.H. Wei, Y. Guo, S.J. Xie, L.M. Mei, Yi J. Yan – *J. Phys.: Confer. Series*, 29, 95, **2006**;
247. A. Troisi, G. Orlandi – *Phys. Rev. Lett.*, 96(8), 086601/1, **2006**;
248. V.I. Arkhipov, P. Heremans, E.V. Emelianova, H. Bassler – *Phys. Rev. B: Cond. Matter Mater. Phys.*, 71(4), 045214/1, **2005**;
249. Si-G. Chen, P. Stradins, B.A. Gregg – *J. Phys. Chem. B*, 109(28), 13451, **2005**;
250. J.L. Brédas, J.P. Calbert, D.A. da Silva Filho, and J. Cornil – *PNAS*, 99(9), 5804, **2002**;
251. J.H. Schön – *Synth. Met*, 122(1), 157, **2001**;

252. G.I. Rusu, I. Căplănuș, L. Leontie, A. Airinei, E. Butuc, D. Mardare, and I.I. Rusu – *Acta Mater.*, 49, 553, **2001**;
253. L. Leontie, I. Druta, R. Danac, M. Prelipceanu, and G.I. Rusu – *Prog. Org. Coat.*, 54(3), 175, **2005**;
254. L. Leontie, I. Druta, R. Danac, and G.I. Rusu – *Synth. Met.*, 155(1), 138, **2005**;
255. L. Leontie, I. Druta, A. Rotaru, C. Podaru and G.I. Rusu – *Mater. Chem. Phys.*, 97(2-3), 476, **2006**;
256. L. Leontie, I. Druta, R. Danac – *Synth. Met.*, 156(2-4), 224, **2006**;
257. L. Leontie and R. Danac – *Scripta Mater.*, 54(2), 175, **2006**;
258. C.-C. Chang, C.-L. Pai, W.-C. Chen and S.A. Jenekhe – *Thin Solid Films*, 479(1-2), 254, **2005**;
259. S. Middleman and A.K. Hochberg – *Process Engineering Analysis in Semiconductor Device Fabrication*, McGraw-Hill, New York, p. 313, **1993**;
260. R. Smith – *Semiconductors*, Cambridge Univ. Press, London, **1980**;
261. L. Leontie, M. Caraman, M. Delibas, G.I. Rusu – *Mater. Res. Bull.*, 36, 1629, **2001**;
262. G. Horowitz – *Adv. Mater.*, 10, 365, **1998**;
263. I. Căplănuș – *Sci. Annals Al.I. Cuza Univ. Iasi (Physics)*, 47(48); 224, **1999/2000**;
264. G. Harbeke (Ed.) – *Polycrystalline Semiconductors: Physical Properties and Applications*, Springer, Berlin, **1985**;
265. L.L. Kazmerski (Ed.) – *Polycrystalline and Amorphous Thin Films and Devices*, Academic, New York, p. 96, **1980**;
266. J.G. Dash – *Films on Solid Surfaces*, Academic, New York, Chapters 1–5, **1975**;
267. G. Wedler - *Chemisorption*, Butterworths, London, **1976**;
268. L. Leontie, G.I. Rusu – *J. Non-Cryst. Solids*, 352(9-20), 1475, **2006**;
269. D.W. Fink, W. E. Ohnesorge – *J. Phys. Chem*, 74, 72, **1970**;
270. M. S. Henry, M. Z. Hoffman – *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 5201, **1977**;
271. H. Yoshimizu, T. Asakura – *Makromol. Chem.*, 192, 1649, **1991**;
272. A. Sakar, Chakravoti – *J. of Luminiscence*, 65, 163, **1995**;
273. M. S. Henry, M. Z. Hoffman – *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 618, **1979**;
274. R. Descheanaux, M.M. Harding, T. Ruch – *J. Chem. Soc. Perkin. Trans*, 2, 1251, **1993**;

275. J. Mahon, L. K. Mehta, R. W. Middleton, J. Parrick, K. Harshad – *J. Chem. Research (S)*, 362, **1992**;
276. A. Vlahovici, I. Druță, M. Andrei, M. Cotlet, R. Dinică – *J. of Luminiscence*, 82, 155, **1999**;
277. B. Valeur – *Molecular Fluorescence*, Wiley-VCH (Weinheim), **2002**;
278. I. Pogany, M. Banciu – *Metode Fizice în Chimia Organică*, Ed. Științifică, București, **1972**;
279. C.A. Parker – *Photoluminiscence of Solutions*, Elsevier, Amsterdam-London-New York, **1968**;
280. C. F. Chapman, R. F. Fee, M. Morincelli – *J. Phys. Chem.*, 99, 13, 4811, **1995**;
281. *** - *Lange's Handbook of Chemistry*, 12th ed., **1978**;
282. Y.-P. Wang, Y.-L. Wei, C. Dong – *J. of Photochem. and Photobiolog A:Chem.*, 177, 6, **2006**;
283. A. A. Waheed, K. S. Rao, P. D. Gupta – *Anal. Biochem.*, 287, 73, **2000**;
284. Y. Nakamaru, C. Sato – *Biochem. Biophys. Acta*, 1480, 321, **2000**;
285. M. L. Silber, B. B. Davitt – *Prep. Biochem. Biotechnol*, 30, 209, **2000**;
286. N. K. Modukuru, K. J. Snow, B. Scott Perrin Jr., A. Bhambhani, M. Duff, C. V. Kumar – *J. of Photochem and Photobiolog. A:Chem.*, 177, 43, **2006**;
287. V. A. Bloomfield, D. M. Crothers, I. Tinoco jr. – *Nucleic Acids. Structure, Properties and Functions*, University Science Books, Sausalito, California, **2000**;
288. O.B. Otsby, B. Dalhus, L.-L. Gundersen, F. Rise, A. Bast, G. R. Haenen – *Eur. J. Org. Chem.*, 3763, **2000**;
289. Traian Florea – *Îndrumar de laborator pentru Chimia Alimentelor*, Ed. Academica, Galați, **2004**;
290. H.G.O. Becker, R. Beckert, G. Domschke, E. Fanghanel, W. D. Habicher, P. Metz, D. Pavel, K. Schwetlick – *Organicum* 21st ed., Wiley-VCH, Weinhei, New York, Chichester, Brisbane, Singapore, Toronto, **2001**.
291. R. Dinică, B.Furdui, M. Demeunynck, L. Bouffier – „Precurseurs de nouveaux heterocycles a intérêt biologique”, 3-ème Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée (COFrRoCA), Bacău, 22-26 septembrie 2004, ISBN 973-8392-36-5, **2004**;
292. R. Dinică, R. Crețu, B. Furdui, T. Florea – „Research on the Antioxidant Effect of Indolisine Derivatives in Vegetables Oils”, *Al VIII-lea Simpozion de Chimia Coloizilor și Suprafețelor*, p. 190, Galați, ISBN 973-8316-84-7, iunie **2005**;

293. R. Dinică, R. Crețu, B. Furdui, T. Florea – „Research on the Antioxidant Effect of Indolisine Derivatives”, *Papers of International Symposium Euro-Aliment 2005*, ISBN 973-8316-87-1 29-30, Galati, septembrie, **2005**,
294. B. Furdui, R. Dinică, I. Druță, M. Demeunynck – „Improved Synthesis of Cationic Pyridinium-Substituted Indolizines”, *Synthesis*, 16, 2640, **2006**;
295. L. Leontie, I. Druta, B. Furdui, G.I. Rusu – “On the mechanism of electrical conduction in some new quaternary salts of bipyridine and indolizine pyridine in thin films”, *Progress in Organic Coatings*, sub tipar;
296. B. Furdui, R. Dinică, M. Demeunynck, I. Druță – „Structural Investigations of Substituted Indolizine Derivatives by NMR Studies”, *Roum. J. of Phys.*, sub tipar;
297. R. Dinică, B. Furdui, G. Bahrim, M. Demeunynck – „Precursseurs de Nouveaux Heterocycles Avec Intérêt Biologique”, *Rev. Roum. Chim.*, sub tipar;
298. B. Furdui, R. Dinică, M. Demeunynck, I. Druță, Al. Vlahovici – „New reactive pyridinium indolizines fluorophores”, *Rev. Roum. Chim.*, sub tipar;
299. B. Furdui, G. Bahrim, R. Dinică, I. Druță, M. Demeunynck – „In vitro antimicrobial activity of new nitrogen heterocycles from 4,4'-bipyridine”, *Roum. Biotech. Lett.*, sub tipar;
300. B. Furdui, R. Dinică, M. Georgescu – „Bipyridinium Ylides as Precursors of New Heterocycles of Biological Interest”, *XXth European Colloquium on Heterocyclic Chemistry*, Stockholm, Suedia, 18-21 August, **2002**;
301. B. Furdui, R. Dinică, M. Georgescu – „New Nitrogen Heterocyclic Compounds with Biological Interest”, *Symposium Sigma-Aldrich Jeunes Chimistes SAJEC 2002*, Strasbourg – Obernai, 21-23 Octombrie, **2002**;
302. B. Furdui, R. Dinică, M. Demeunynck, I. Druță, P. Dumy – „Nouveaux fluorophores indolisiniques d'interets biologiques”, *Symposium Sygma-Aldrich Jeunes Chimistes SAJEC 2005*, Villeneuve d'Asq – Lille, 17-19 Octombrie, **2005**;
303. R. Dinică, B. Furdui– „Structural Investigations of Indolizinic Compounds By NMR Studies”, *Conferința Națională de Fizică Aplicată, ed. a II-a*, 9 – 10 iunie, Galați, **2006**;
304. B. Furdui, R. Dinică, M. Demeunynck, I. Druță – „Synthesis and photophysics of new reactive pyridinium indolizines fluorophores”, *The International Conference of Physical Chemistry ROMPHYSICHEM-12*, 6-8 septembrie, București, **2006**;