

**Dedicat academicianului Gheorghe DUCA
cu ocazia împlinirii a 70 de ani de la naștere*

**SCLAREOLUL - MATERIE PRIMĂ SUSTENABILĂ
PENTRU SINTEZA COMPUȘILOR TERPENICI
CU VALOARE ADĂUGATĂ ÎNALTĂ***

***Aculina ARÎCU,
Veaceslav KULCIŢKI,
Nicon UNGUR***
*Institutul de Chimie,
Chişinău, Republica Moldova*

Date despre autori



Aculina ARÎCU, doctor habilitat în științe chimice, director al Institutului de Chimie, Chişinău, Republica Moldova. Este specializată în chimia organică și bioorganică, chimia compușilor naturali și fiziologic activi. Contribuțiile majore în cercetare țin de elaborarea metodelor chemo-, regio- și stereoselective de sinteză a compușilor norlabdanici și drimanici optic activi, inclusiv derivați care conțin azot și halogen, cât și a compușilor cu schelet hibrid terpeno-heterociclic pe baza diterpenoidei labdanice naturale accesibile sclareol, elucidarea mecanismelor de reacție și a condițiilor optime de obținere a compușilor menționați, sinteza dirijată a compușilor noi cu potențial ridicat de activitate biologică prin aplicarea metodelor computaționale de prognozare a activității, cu posibilități de aplicare industrială.

e-mail : aculina.aricu@ichem.md

ORCID: 0000-0001-7201-2519



Veaceslav KULCIŢKI, doctor habilitat în științe chimice, șef al laboratorului Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi, Institutul de Chimie, Chişinău, Republica Moldova. Este specializat în chimia organică de sinteză, chimia compușilor naturali, chimia medicinală, chimia analitică. Contribuțiile majore în cercetare țin de domeniul chimiei terpenoidelor, în particular sinteza unui șir de familii de compuși terpenici în baza Principiului Biomimetic Aleatoriu, utilizarea regrupărilor cationice pentru modificări scheletale a terpenoidelor, utilizarea transformărilor radicalice pentru funcționalizarea terpenoidelor cu heteroatomi, identificarea derivaților terpenici cu activitate biologică, utilizarea metodelor HPLC, RMN și GC-MS pentru analiza și valorificarea metaboliților secundari în surse vegetale, implementarea principiilor Chimiei Verzi în valorificarea practică a compușilor naturali.

e-mail: veaceslav.kulcitki@ichem.md

ORCID: 0000-0002-9363-1615



Nicon UNGUR, doctor habilitat în științe chimice, cercetător științific principal al laboratorului Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi, Institutul de Chimie, Chișinău, Republica Moldova. Este specializat în chimia bioorganică, chimia organică sintetică, chimia compușilor naturali, în special a isoprenoidelor. Contribuțiile majore în cercetare țin de elaborarea metodelor biomimetice de sinteză a mono-, sesqui-, di- și sesterterpenoidelor ciclice din precursori alifatici sau parțial ciclizați, sinteza terpenoidelor naturale inclusiv cu activitate biologică, sinteza unor terpenoide cu schelet nou prin regrupări moleculare, sinteza terpenoidelor cu proprietăți odorante, valorificarea resurselor locale de compuși biologic activi.

e-mail: nicon.ungur@gmail.com

ORCID: 0000-0002-7457-4520

Introducere

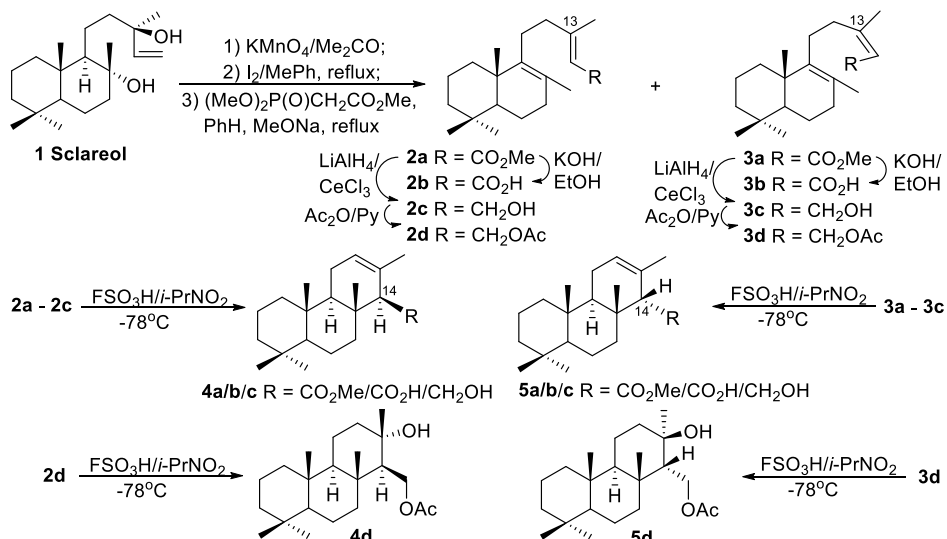
Puterea creativă a chimiei reprezintă o pârghie crucială în progresul societății moderne. Odată cu aceasta, schimbările climatice și provocările de mediu actuale impun abordarea paradigmatelor alternative pentru integrarea metodelor sintezei chimice în produsele și procesele de utilitate practică. Enunțarea principiilor chimiei verzi a trasat o linie strategică clară pentru comunitatea globală a chimiștilor. Astfel, unul din elementele esențiale ale „dodecalogului” lui Anastas și Warner [1] este cerința de utilizare a materiilor prime din surse renovabile. În acest context, chimia compușilor naturali este în consonanță deplină cu perspectiva de utilizare a metaboliților secundari din surse vegetale în calitate de materii prime valoroase la scară industrială.

Din șirul surselor vegetale locale disponibile, *Salvia sclarea* se evidențiază atât prin potențialul de utilizare a produsului de bază – uleiul eteric, precum și a substanțelor obținute din deșeuri, dintre care sclareolul (**1**) este un compus cu structură diterpenică de relevanță industrială. Numai la o singură întreprindere autohtonă din sudul Moldovei, care activează cu succes deja de mult timp, producția de sclareol atinge cote de ordinul zecilor de tone, livrat exclusiv pentru export la prețuri de sute de Euro per kilogram. Utilizarea lui principală include producția de odorante pentru scopuri parfumerice, cosmetice, medicinale și alimentare.

Cercetătorii din laboratorul Chimie a Compușilor Naturali și Biologic Activi au depus eforturi considerabile de-a lungul întregii perioade de existență a Institutului de Chimie pentru identificarea noilor posibilități de valorificare a sclareolului. Regrețaii Gheorghe Lazurievski și Dumitru Popa, Pavel Vlad și Mihai Colța au fost cei care în cea mai mare măsură și-au dedicat elanul de cercetare pentru explorarea chimiei sclareolului. Pentru a demonstra continuitatea cu străduițele predecesorilor, autorii prezintă în lucrarea de față rezultatul propriei contribuții la cele mai recente realizări în acest domeniu.

Modificarea chimică a sclareolului cu păstrarea atomilor de carbon ai scheletului labdanic

Sclareolul (**1**) conține trei grupe funcționale reactive care au fost explorate pe larg pentru modificarea structurală în diverse moduri, cu păstrarea scheletului carbonic C-20 intact. Astfel, diolul **1** a servit ca punct de pornire la sinteza compușilor diterpenici cu schelet carbonic triciclic *ent*-isocopalic. La baza sintezei acestor compuși a fost metoda de ciclizare superacidă la temperatură joasă a substratelor labdanice **2a** - **2d** și **3a** - **3d** (Schema 1).

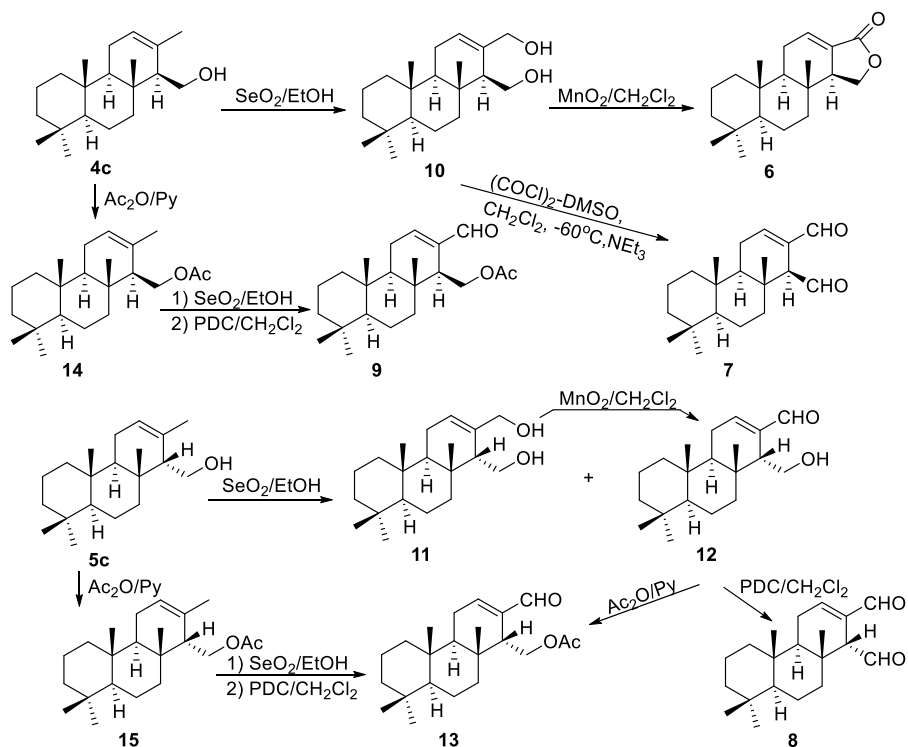


Schema 1. Sinteza diterpenoidelor cu schelet carbonic *ent*-isocopalic.

După cum s-a demonstrat, reacția de ciclizare superacidă a substratelor labdanice **2a** - **2d** și **3a** - **3d** decurge structural-specific și chemo-selectiv, cu formare de diterpenoide *ent*-isocopalice **4a** - **4d** și **5a** - **5d** [2-5]. Diterpenoidele *ent*-isocopalice **4a** - **4d** și **5a** - **5d** au servit în calitate de substanțe inițiale la sinteza altor compuși diterpenici bioactivi, inclusiv naturali. Astfel, alcoolii *ent*-isocopalici **4c** și **5c** au fost utilizați la sinteza unor diterpenoide naturale **6** - **9**, izolate anterior din bureții de mare *Spongia officinalis*, colectați în Marea Mediterană [6, 7]. Alcoolul *ent*-isocopalic **4c** a fost oxidat cu dioxid de selen în diolul diterpenic **10**, care într-o altă reacție de oxidare selectivă cu MnO_2 a produs compusul natural – isoagatholactonul (**6**) [8]. Diterpenoidul **6** este primul reprezentant natural al acestei subclase de diterpenoide triciclice, izolat în 1974 de Cimino ș.a. [6] (Schema 2).

Oxidarea diolului **10** în condițiile reacției Swern a condus la formarea dialdehidei naturale **7** [9], izolată anterior din aceeași sursă marină [7].

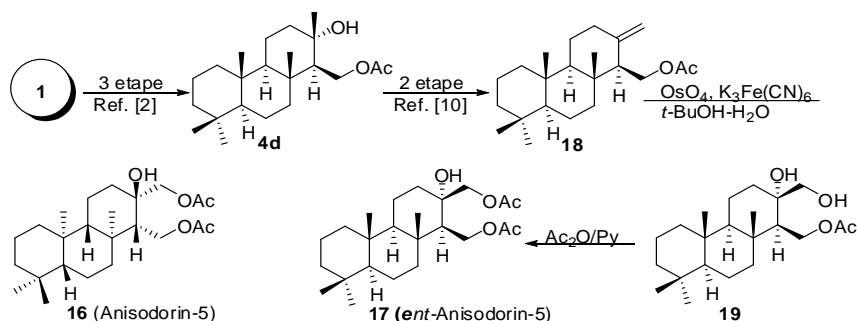
Dialdehida naturală **8**, care este epimerul la C-14 al aldehydei **7**, a fost obținută din alcoolul **5a**. Astfel, la oxidarea cu SeO_2 în etanol, alcoolul **5c** a format un amestec din diolul **11** și hidroxialdehida **12**. Ultima la oxidare cu complexul piridinium dichromat (PDC) a condus la formarea dialdehidei **8**. Trebuie de menționat, că oxidarea diolului **11** cu dioxidul de mangan a produs doar hidroxialdehida **12**, iar epimerul la C-14 a isoagatolactonului **7** nu s-a format. Sinteza acetoxialdehidei *ent*-isocopalice naturale **9**, și a epimerului ei la C-14 - acetoxialdehidei **13** a fost realizată prin dubla oxidare a acetatilor respectivi – **14** și **15**, cu SeO_2 , apoi cu complexul PDC (Schema 2).



Schema 2. Sinteza unor diterpenoide naturale *ent*-isocopalice.

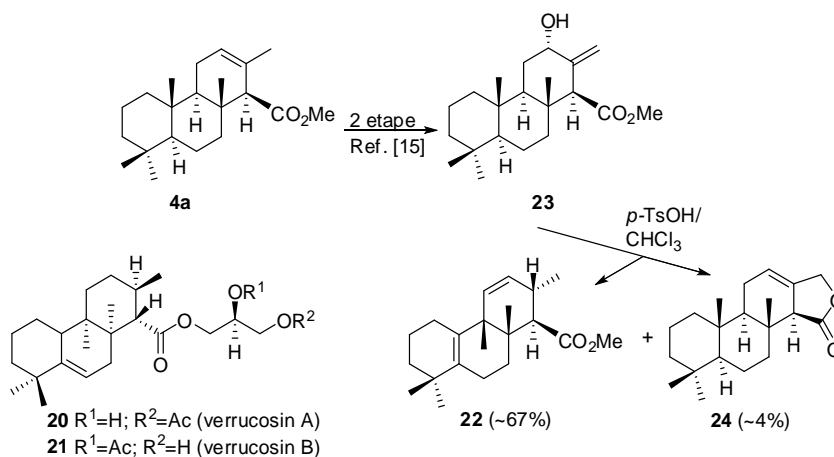
Din moluștele marine *Anisodoris fontaini* autorii [10] au izolat un metabolit, cu structură isocopalică **16**, denumit anisodorin-5, la care n-a fost determinată structura și stereochemia absolută. Deaceia a fost necesară sinteza acestui diterpenoid, pornind de la un diterpenoid cu stereochemia absolută cunoscută. Cu acest scop a fost realizată sinteza hidroxidiacetatului **17** (*ent*-anisodorin-5) (Schema 3) [11].

Astfel, pornind de la sclareol (**1**), s-a obținut în 3 etape, conform metodei [2], hidroxidiacetatul **4d**. În alte 2 etape diterpenoidul **4d** a fost transformat în acetatul *ent*-isocopalice exociclic **18**. Ultimul la oxidarea cu amestecul de $\text{OsO}_4 - \text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ a condus la formarea dihidroxidiacetatului **19**, care la acetilare în condiții standart a produs *ent*-anisodorinul-5 (**17**). În așa fel a fost stabilită configurația absolută a compusului natural – anisodorin-5 (**16**).



Schema 3. Sinteza *ent*-anisodorinului-5 din sclareol.

Compușii diterpenici verrucosin A (**20**) și verrucosin B (**21**) au fost izolați din moluștele *Doris verrucosa*, colectate în Marea Mediterană [12]. Acilgliceridele **20** și **21** posedă activitate biologică în calitate de activatori ai protein kinasei C [13]. Partea diterpenică din esterii **20** și **21** reprezintă schelet isocopalic regrupat. Pornind de la *ent*-isocopalatul de metil **4a**, a fost realizată sinteza esterului diterpenic **22** (Schema 4) [14].

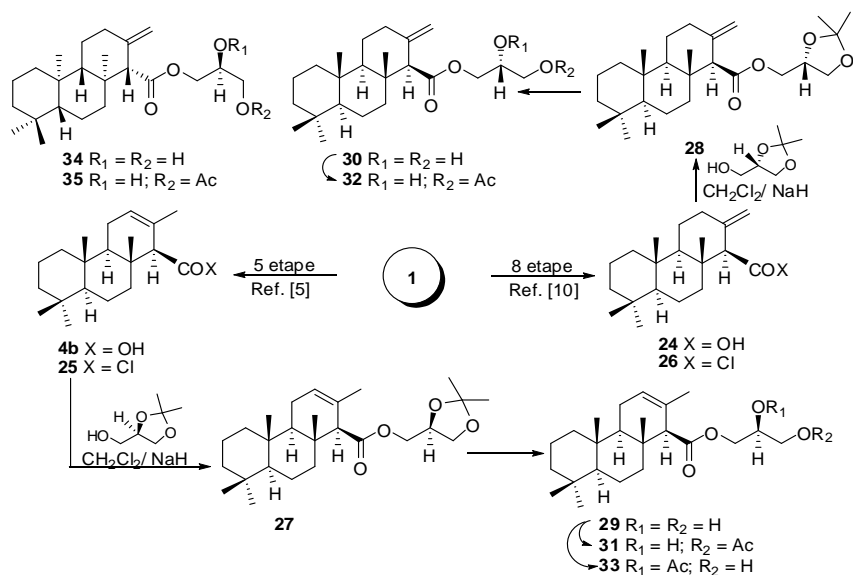


Schema 4. Sinteza scheletului carbonic al *ent*-verrucosinului (**22**).

Astfel, esterul **4a** a fost transformat în 2 etape conform metodei [15] în hidroxi esterul alilic **23**, care în mediu de acid *p*-toluensulfonic în cloroform, formează un amestec de doi compuși **22** și **24**, în care produsul majoritar este esterul dienic **22** cu schelet carbonic *ent*-verrucosinic.

Acilglicerolii terpenici reprezintă un grup interesant de compuși bioactivi naturali, care ar putea servi în calitate de marcheri chimici al moluștelor marine de genurile înrudite: *Anisodoris*, *Archidoris*, *Austrodoris*, etc. Acești compuși de obicei posedă activitate biologică, de exemplu în calitate de activatori ai proteinkinasei C.

Pornind de la sclareol (**1**) a fost elaborată o schemă de sinteză a acilgliceridelor terpenice, utilizând acizii terpenici **4b** și **24** (Schema 5), care au fost transformați în cloranhidridele respective **25** și **26**, și imediat au fost cuplate cu (-)-1,2-*O*-isopropiliden-*sn*-glicerol sau (+)-1,2-*O*-isopropiliden-*sn*-glicerol, formând respectiv esterii **27** și **28**.



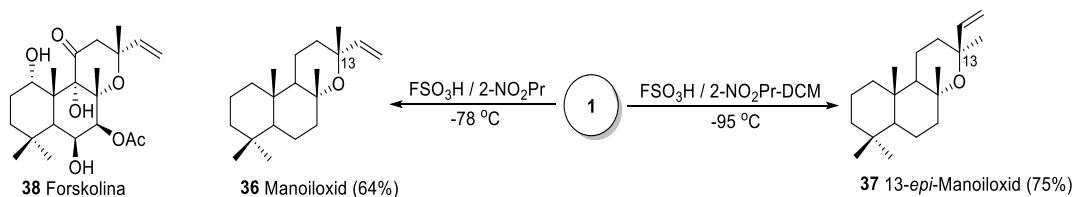
Schema 5. Sinteza acilgliceridelor diterpenice naturale și a unor analogi.

Deprotejarea grupei acetonid în mediu acid a format monoacilglicerolii diterpenici **29** și **30**. 1,3-Diacilglicerolii **31** și **32** au fost obținuți în rezultatul acetilării selective a monoacilglicerolilor **29** și **30** cu N-acetilimidazol.

1,2-Diacilglicerolul diterpenic **33** a fost sintetizat din monoacilglicerolul **29**. Grupa primară hidroxil a compusului **29** a fost selectiv protejată, iar compusul format după acetilare și deprotejare în condiții moi, a furnizat compusul natural – 1,2-diacilglicerolul **33** [10], [16], [17]. Trebuie de menționat că monoacilglicerolul **30** și 1,3-diacilglicerolul **32** sunt enantiomerii compușilor naturali **34** și **35** izolați din moluștele *Anisodoris fontaini* [10].

Manoioxizii **36**, **37** posedă schelet carbonic identic cu cel al forskolinei **38**, care este un compus sesquiterpenic natural cu activitate de amplificare a nivelului adenozinmonofosfatului prin stimularea adenilatciclazei. Ambii epimeri **36** și **37** pot fi preparați pe mai multe căi pornind de la sclareol.

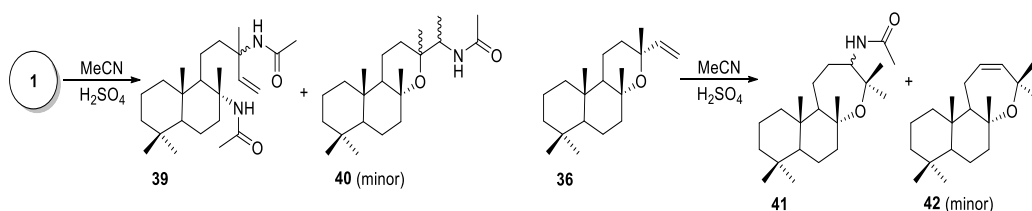
O cale convenabilă de ciclizare directă a fost elaborată cu utilizarea acidului fluorosulfonic în mediu de 2-nitropropan la temperatura de $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ [18]. La un raport dintre sclareol și superacid de 1:5, a fost obținut un randament de 64% al manoioxidului **36** (Schema 6).



Schema 6. Sinteza selectivă a manoioxizilor.

Pentru realizarea sintezei selective a epimerului **37**, au fost realizate studii suplimentare, care au condus la identificarea condițiilor de reacție în care deshidratarea **1** permite obținerea *epi*-manoiloxidului **37** cu un randament de 75 % și o selectivitate excelentă de 90:10 față de manoiloxidul **36** [19]. O astfel de inversare a diastereoselectivității procesului de deshidratare intramoleculară a fost posibilă la tratarea substratului **1** cu 5 moli-echivalenți de acid fluorosulfonic în amestec de diclorometan - 2-nitropropan (1:1) la o temperatură de -95 °C timp de 15 min. Astfel, modularea condițiilor de reacție permite obținerea selectivă a fiecărui epimer. E de menționat faptul că realizarea acestei transformări cu acizi obișnuiți la temperaturi mai înalte a condus la obținerea manoiloxizilor cu randamente bune, dar cu o selectivitate mult mai inferioară [20].

Lărgirea diversității structurale a compușilor cu schelet labdanic a fost demonstrată cu succes la funcționalizarea directă a sclareolului cu grupe funcționale ale azotului. Pentru a realiza substituția într-o singură etapă a grupelor hidroxil cu grupe amine a fost utilizată reacția Ritter [21], care reprezintă o transformare simplă de adădire a acetonitrilului catalizată de acizi puternici. În rezultat au fost obținuți amino-derivații sclareolului în forma acetamidelor epimere **39** (Schema 7).



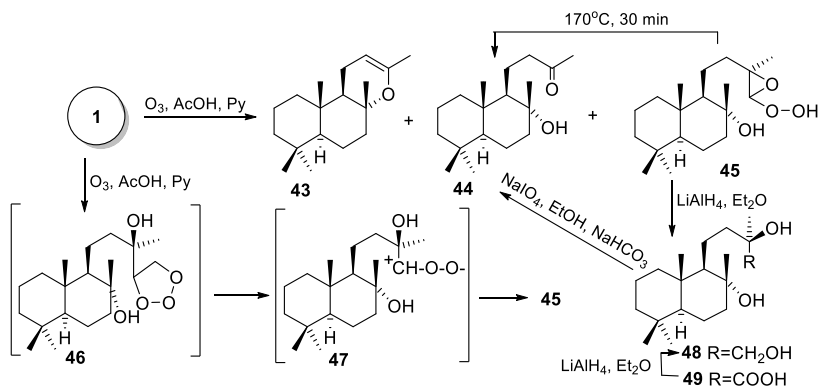
Schema 7. Obținerea acetamidelor labdanice în condițiile reacției Ritter.

E de menționat faptul că această transformare nu este destul de selectivă, de rând cu compușii de bază **39** se mai formează o serie de compuși minori, dintre care s-a reușit caracterizarea acetamidelor **40** [20].

Formarea acestora a fost explicată prin ciclizarea inițială a sclareolului în mediu acid până la manoiloxizi, care în continuare interacționează cu acetonitrilul conform unui mecanism de adădire electrofilă. Această ipoteză, însă, nu a fost confirmată, deoarece la interacțiunea manoiloxizilor cu acetonitrilul în aceleași condiții s-au obținut o serie de compuși cu scheletul carbonic regrupat **41**, **42** dintre care predomină amidele **41**. Compușii **41**, **42** au format fragmentul oxepanic în urma lărgirii ciclului inițial al manoiloxizilor și structural reprezintă un exemplu de inversare a conexiunii primului fragment de izopren în catena labdanică de la modul cap-coadă la modul coadă-coadă. Astfel de transformări realizate într-o singură etapă nu mai au precedent în literatura științifică.

Modificarea chimică a sclareolului prin degradarea scheletului labdanic

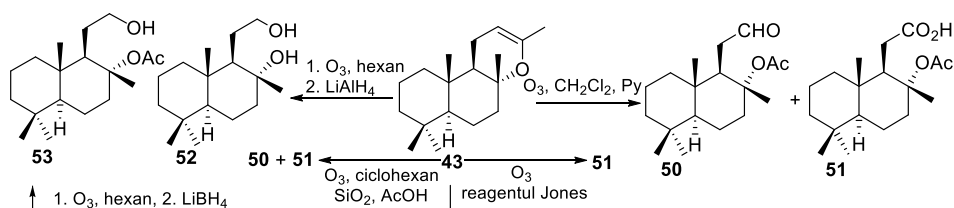
Sclareolul este unul dintre labdanoidele de bază, folosite pentru obținerea compușilor norlabdanici. Din aceste considerente a fost studiată detaliat, reacția de ozonizare a sclareolului în scopul elaborării unor metode selective de preparare a compușilor practic valoroși și studiul influenței condițiilor de ozonizare asupra direcției reacției și caracterului produselor formate [22-24]. La ozonizarea sclareolului **1** în acetat de etil în prezența a 5% de piridină la $-65 \div -70^\circ\text{C}$ se obține un amestec de trei compuși: $8\alpha,13$ -epoxi-14,15-bisnorlabda-12-ena **43** (37%), 8α -hidroxi-14,15-bisnorlabda-13-ona **44** (17%), care au fost identificați cu probe autentice ale lor, și un produs instabil (13*R*,14*R*)-15-nor-13,14-epoxi-14-hidroperoxilabdan-8 α -olul **45** (Schema 8).



Schema 8. Sinteza sclareoloxidului (**43**) din sclareol (**1**) prin ozonizare.

Structura acestuia a fost stabilită în baza datelor spectrale și a unor transformări chimice. La încălzire compusul **45** se descompune cu formarea unui amestec complex de substanțe, în care predomină hidroxicetona **44**, iar la reducere cu alumohidru de litiu a fost obținut cu randament satisfăcător un compus, ce conține două grupe hidroxil terțiare și una primară și are structura 15-norlabda-8 α ,13,14-triolului **48**. La oxidarea triolului **48** cu periodat de sodiu se obține hidroxicetona **44**, ceea ce-i confirmă structura. Structura lui a fost confirmată și prin reducerea acidului sclareolic cunoscut **49** cu alumohidru de litiu. Formarea (13*R*,14*R*)-15-nor-13,14-epoxi-14-hidroperoxilabdan-8 α -olului are loc în conformitate cu mecanismul ozonizării alcoolilor alilici propus de Everest și col., conform căruia amfionul **47** format din ozonida primară **46** se stabilizează sub formă de hidroperoxid **45**.

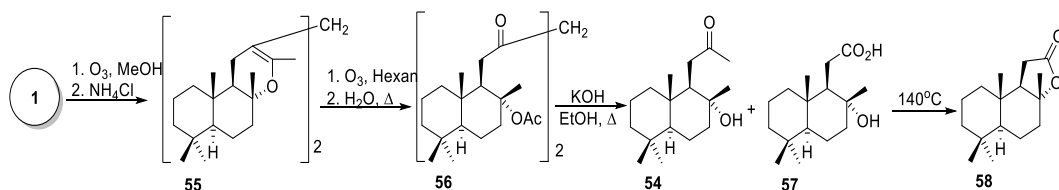
Sclareoloxidul (**43**) servește în calitate de compus inițial la sinteza multor compuși tetranorlabdanici valoroși din punct de vedere practic. A fost studiată detaliat reacția de ozonizare a sclareoloxidului **43** [25]. Ozonizarea oxidului **43** în clorură de metilen sau acetat de etil în prezență de piridină la $-25 \div -30^\circ\text{C}$ conduce la obținerea 8α -acetoxi-13,14,15,16-tetranorlabdan-12-alului **50** (~80%) și a acidului 8α -acetoxi-13,14,15,16-tetranorlabdan-12-oic **51** (~19%) (Schema 9).



Schema 9. Sinteza compusilor tetranorlabdanici din sclareoloxid (43).

În cazul tratării ozonidei obținute cu peroxid de hidrogen, selectivitatea reacției de ozonizare scade, obținându-se amestecul de compuși **50** și **51** în raport de 2:3. Același rezultat se obține prin ozonizarea oxidului **43** în ciclohexan în prezența unui echivalent molar de acid acetic și a unei cantități mici de silicagel, urmată de reducerea produsului de reacție pe catalizator Lindlar. Cu mărirea cantității de adsorbant randamentul acidului **51** crește în paralel cu scăderea randamentului aldehidei **50**, iar la un raport de oxid **43** și SiO₂ de 1:10 acetoxiacidul **51** se obține ca produs de bază (70%). La tratarea ozonidei cu reagentul Jones, acetoxiacidul **51** este unicul produs al reacției, însă randamentul acestuia nu a depășit 65%. Prin ozonizarea oxidului **43** în hexan și reducerea ozonidei cu alumohidruură de litiu a fost obținut 13,14,15,16-tetranorlabdan-8α,12-diolul **52** (76%). Ozonizarea oxidului **43** în metanol și reducerea peroxizilor formați cu borohidruura de litiu sau borohidruura de potasiu, fără saponificarea ulterioară a produsului de reacție, conduce la 8-monoacetatul 11-homodrim-8α-acetoxi-12-olului **53** și o mică cantitate de acetoxiacid **51**. Astfel, datele menționate mai sus demonstrează, că variind condițiile reacției de ozonizare a oxidului **43** poate fi efectuată în mod selectiv sinteza compusilor tetranorlabdanici **50**, **51**, **52** și **53** [25].

11-Bishomodriman-8α-ol-12-ona **54** este un sinton prețios pentru sinteza compusilor norlabdanici și drimanici polifuncționali. A fost elaborată o metodă eficientă de obținere a acestuia din sclareol **1**, utilizând din nou metoda ozonolitică [26]. La ozonizarea sclareolului **1** în metanol la 15÷20°C și tratarea ulterioară a produsului cu clorură de amoniu anhidră, a fost obținut dimerul **55** (randament 80%) (Schema 10).

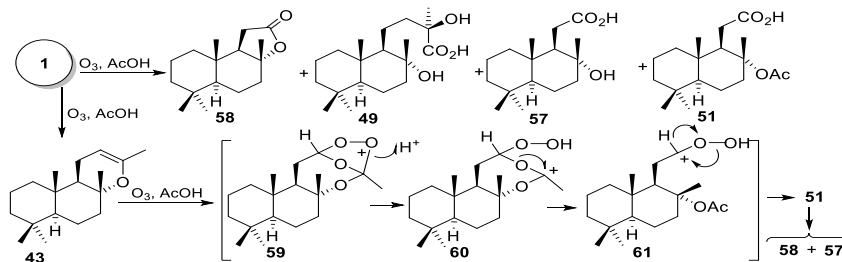


Schema 10. Sinteza 11-bishomodriman-8-ol-12-unei **54**.

Ozonizarea succesivă a acestuia în hexan la $-65 \div -70^\circ\text{C}$ și descompunerea ozonidei prin încălzire (70°C) în prezența apei a condus cu randament cantitativ la bis-(13,14,15,16-tetranorlabdan-8α-acetoxi-12-on-12-il)-metanul **56** instabil. La scindarea acestuia cu bază alcoolică a fost obținut amestecul de 14,15,16-trisnorlabdan-8α-ol-12-onă **54** (46%) și acidul 13,14,15,16-tetranorlabdan-8α-ol-12-oic **57** (48%) [26].

Ultimul compus la încălzire se transformă în sclareolida **58**, randamentul căreia a constituit 48%, calculat la dimerul **55**. Astfel, cercetările efectuate au permis stabilirea condițiilor optime de obținere a 14,15,16-trisnorlabdan-8 α -ol-12-unei **54** și sclareolidei **58** din sclareol **1** prin metoda ozonizării, cu un grad redus de poluare [26].

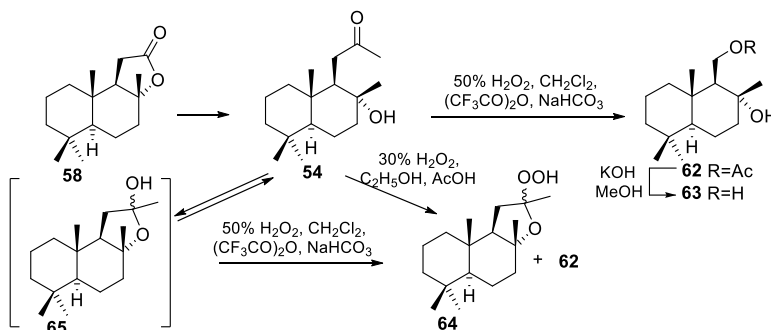
Ținând cont de rolul important al sclareolidei **58** în semisinteza labdanilor și a compușilor înrudiți, a fost elaborată o metodă alternativă de obținere a acesteia la ozonizarea sclareolului **1** în mediul de acid acetic la 20°C [27]. Frația neutră a produsului reacției conține sclareolida **58** (26%), iar cea acidă – acidul sclareolic **49** (10%), oxiacidul **57** (7%) și acetoxiacidul **51** (39%) (Schema 11).



Schema 11. Sinteza sclareolidei **58**.

Reieșind din componența produsului reacției, a fost realizată saponificarea și lactonizarea acestuia prin încălzire la 130 – 140°C, iar apoi purificarea prin cristalizare. Urmând această cale, randamentul sclareolidei **58** a constituit 69%. Mecanismul posibil al transformării sclareolului **1** în sclareolida **58** include în calitate de intermediari plauzibili sclareoloxidul **43**, ozonida **59** și produșii de transformare ai ei **60** și **61**. Această schemă este confirmată și de datele obținute la ozonizarea sclareoloxidului **43** în aceleași condiții, obținându-se aceiași compuși **57** și **58**. Metoda ozonolitică propusă pentru obținerea sclareolidei **58** [27] constituie o ameliorare a metodelor cunoscute, fiind mai eficientă și cu potențial de aplicare industrială.

De asemenea, sclareolul **1** a servit în calitate de compus inițial la prepararea monoacetatului drimandiolului **62** [28], care, la rândul său, este un intermediar valoros pentru sinteza derivaților drimanici biologic activi. Reacția sclareolidei **58** cu metilitiu într-un raport molar de 1:2 dă produsul cunoscut 14,15,16-trisnorlabdan-8 α -ol-12-ona **54** cu un randament de 65% (Schema 12) [28].

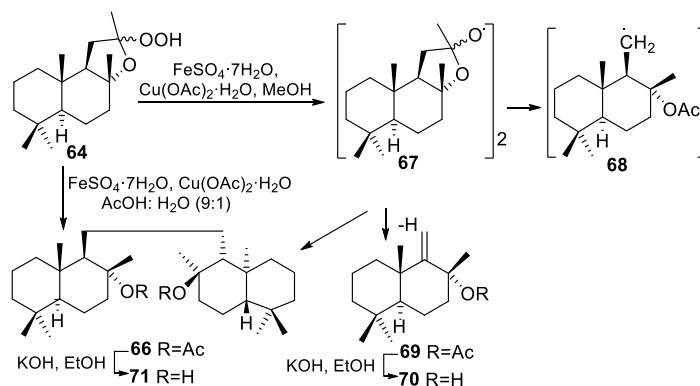


Schema 12. Sinteza oxiacetatului **62** și a 12-hidroperoxi-8 α ,12-epoxi-homodrimanului **64**.

S-a realizat oxidarea oxiketonei **54** în oxiacetatul **62** după metoda Baeyer-Williger cu randament cantitativ, folosind acidul trifluoroperacetic, obținut *in situ* din peroxid de hidrogen de 50% și un exces de anhidridă trifluorocetică în prezență de tampon NaHCO_3 [28]. S-a dovedit însă ca cantitatea de NaHCO_3 influențează esențial asupra rezultatelor reacției. Dacă raportul dintre $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ și NaHCO_3 este 1:1 oxiacetatul **62** se obține cu randament cantitativ. În cazul când oxidarea se petrece fără NaHCO_3 , randamentul compusului **62** constituie doar 30-40%. Dacă raportul dintre NaHCO_3 și $(\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O}$ este mai mare de 1:1 randamentul **62** se micșorează, deoarece concomitent se formează hidroperoxidul **64**.

Randamentul maximal al acestui compus a atins 75% la raportul molar $\text{NaHCO}_3 : (\text{CF}_3\text{CO})_2\text{O} = 6,4:1$. În acest caz randamentul oxiacetatului **62** constituie 24%. Hidroperoxidul **64** se obține, probabil, din forma ciclică **65** a oxiketonei **54**, cu care ea se află în echilibru. Luând în considerație că hidroperoxidul **64** este un compus valoros a fost elaborată o metodă de sinteză simplă a lui. La tratarea oxiketonei **54** în amestecul de etanol și acid acetic cu H_2O_2 de 30% în condiții moi, hidroperoxidul se obține cu randament practic cantitativ [29]. Acest hidroperoxid, spre deosebire de alți compuși din această clasă de substanțe, este stabil la păstrare îndelungată. Această stabilitate, dar și accesibilitatea și particularitățile structurale ale hidroperoxidului îl fac ca compus inițial convenabil pentru sinteza unui șir de terpenoide. Această metodă a fost brevetată [29]. 12-Hidroperoxi-8 α ,12-epoxi-11-bishomodrimanul **64**, obținut în premieră, a fost testat în calitate de compus ce posedă proprietăți antimicotice pronunțate care poate fi utilizat la tratarea bolilor provocate de fungi [30].

12-Hidroperoxi-8 α ,12-epoxi-11-bishomodrimanul **64** a fost folosit în calitate de compus inițial la sinteza diacetatului onocerandiului **66**, triterpenoidă tetraciclică din seria onoceranică (Schema 13) [31].

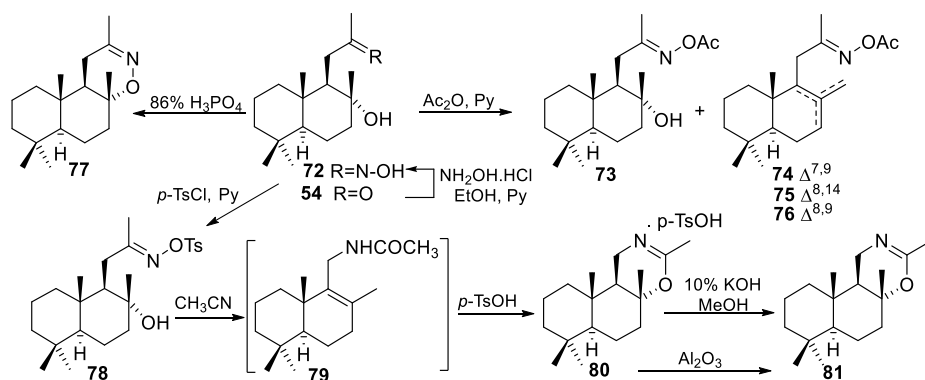


Schema 13. Sinteza onocerandiului (**71**).

Este cunoscut faptul, că în alcoxiradicalii terțiari are loc scindarea legăturii C-C în poziția β cu formarea carboradicalilor și a compușilor carbonilici. La rândul lor, carboradicalii se stabilizează prin recombinație sau prin eliminarea unui atom de hidrogen, cu formare de olefine. Astfel, alcoxiradicalul **67** care poate fi obținut din hidroperoxidul **64** prin intermediul acetoxi-carboradicalului **68**, poate conduce la

formarea diacetatului onocerandiului **66**, ori a acetatului drim-9(11)-en-8 α -olului **69**. În scopul scindării reductive a hidroperoxidului **64**, a fost studiată detaliat reacția acestuia cu amestecul FeSO₄·7H₂O și Cu(OAc)₂·H₂O. S-a stabilit, că la efectuarea reacției în mediu de acid acetic-apă (9:1) hidroperoxidul **64** se transformă în mod cantitativ în hidroxicetona inițială **54**, pe când la petrecerea reacției în soluție de metanol se formează diacetatul onocerandiului **66** cu un randament înalt (68%), iar în calitate de produs secundar – acetatul drim-9(11)-en-8 α -olului **69** (28%). Tentativele de a mări randamentul obținerii compusului **66** prin modificarea condițiilor de reacție nu s-au încununat cu succes. Structura diacetatului **66** a fost elucidată în baza datelor spectrale și a spectrelor de masă. Acetatul onocerandiului **66**, fără separarea prealabilă a produsului reacției, a fost saponificat în onocerandiul cunoscut **71**. Astfel, prin reacția de scindare radicalică a compusului accesibil 12-hidroxi-peroxi-8 α ,12-epoxi-11-bishomodrimanul **64** pentru prima dată a fost realizată, într-o singură etapă, o sinteză simplă și eficientă a triterpenoidei tetraciclice - diacetatul onocerandiului **66**, compus natural important, care poate fi utilizat în calitate de adjuvant ce potențează efectul imunologic al vaccinurilor.

Rezultate relevante au fost înregistrate de către colectivul Laboratorului Chimia Compușilor Naturali și Biologic Activi și în sinteza compușilor polifuncționali chirali cu unități structurale terpenice și heterociclice cu azot ce manifestă activitate biologică selectivă și toxicitate joasă datorită originii naturale a substanțelor nominalizate. Cercetările descrise se referă la sinteza compusilor cu conținut de azot prin intermediul transpoziției Beckmann a oximei **72** a 11-bishomodriman-8 α -ol-12-unei **54** în prezența diferitor reagenți [32]. Oxima **72** a fost obținută din hidroxicetona **54** la interacțiunea acesteia cu clorohidratul hidroxilaminei în amestecul de solvenți etanol și piridină (Schema 14).

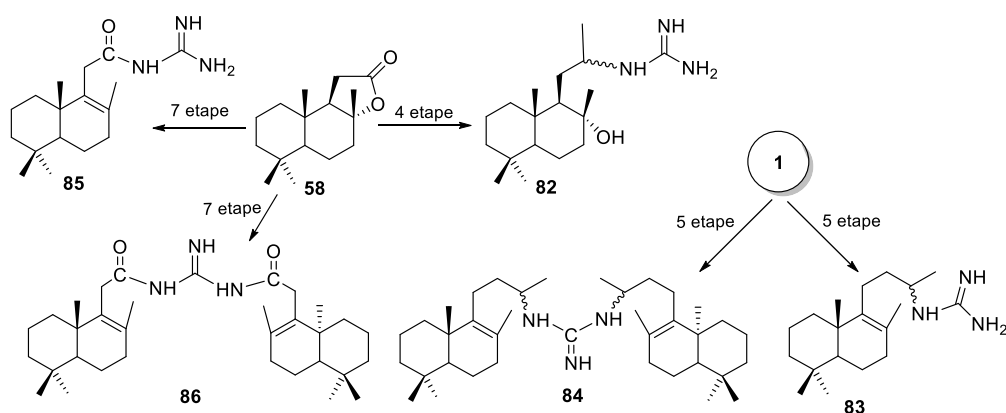


Schema 14. Sinteza sesquiterpenoidelor drimanice cu conținut de azot din 11-dihomodriman-8-ol-12-ona **54**

Conform datelor cromatografice și spectrale, produsul reacției reprezintă amestecul izomerilor *Z* și *E*. Reieșind din faptul, că izomerul *E* este termodinamic mai stabil, iar izomerul *Z* ușor se transformă în izomerul *E*, oxima **72** a fost utilizată în reacțiile ulterioare sub formă de amestec. Este cunoscut, că regruparea Beckmann

decurge în mod stereospecific în rezultatul anti-migrației radicalului mai voluminos. Astfel, produsul de bază al regrupării Beckmann al oximei **72** urmând să fie o amidă. S-a stabilit însă, că la tratarea oximei **72** cu Ac_2O în piridină la $105\text{--}110^\circ\text{C}$ aceasta nu se regroupează, dar se transformă în acetatul **73** (90%) și o mică cantitate (5%) de amestec ai acetatilor oximelor izomerice **74-76** în raport de cca 5:4:1. La încălzirea soluției oximei **72** în H_3PO_4 de 86%, regruparea Beckmann deasemenea nu are loc, în rezultatul deshidratării și ciclizării se formează (1*S*,2*S*,4*aS*,8*aS*)-2,5,5,8*a*-tetrametildecahidro-1*H*-nafto[1,2][5,6]-3-metil-4,5-dihidro[1,2,6]-oxazina **77**. În urma interacțiunii oximei **72** cu cloranhidrida acidului *p*-toluensulfonic la temperatura camerei se obține tozilatul oximei **78**, care la refluxare în CH_3CN elimină apa și acidul *p*-TsOH, regrupându-se conform transpoziției Beckmann, cu formarea unui amestec aproape cantitativ de amidă nesaturată **79** și acidul *p*-TsOH. Sub influența acidului *p*-TsOH are loc ciclizarea compusului **79**, cu obținerea unei sări, care conform datelor spectrelor IR- și RMN a fost identificată drept sarea acidului *p*-toluensulfonic a (1*S*,2*S*,4*aS*,8*aS*)-2,5,5,8*a*-tetrametidecahidro-1*H*-nafto[1,2][5,6]-2-metil-4,5-dihidro[1,3,6]-oxazinei **80**. Acidul *p*-TsOH a fost înlăturat la tratare cu o soluție de 10% KOH în MeOH, obținându-se 1,3,6-oxazina **81**.

Folosind sclareolul și sclareolida ca materii prime, derivații guanidinici ai 12-amino-11-dihomodriman-8*a*-olui **82** și 13-amino-14,15-bis-dinorlabd-8(9)-enei (**83**), (**84**) au fost sintetizați prin reacția aminelor corespunzătoare cu hidrogenamida de sodiu în soluție de etanol – apă. S-a realizat, deasemenea, sinteza derivaților cu fragment guanidinic ai acidului $\Delta^{8,9}$ -biciclohomofarnesenoid, care a fost obținut din sclareolidă în șase etape cu un randament de 62% [33]. Acidul a fost activat cu carbonildiimidazol (CDI) în DMF, apoi s-a adăugat soluția de guanidină în DMF la temperatura camerei. Ca rezultat au fost obținute *N*-($\Delta^{8,9}$ -biciclohomofarnesenoid)-guanidina **85** și *N,N'*-di-($\Delta^{8,9}$ -biciclohomofarnesenoid)-guanidina **86** (Schema15).



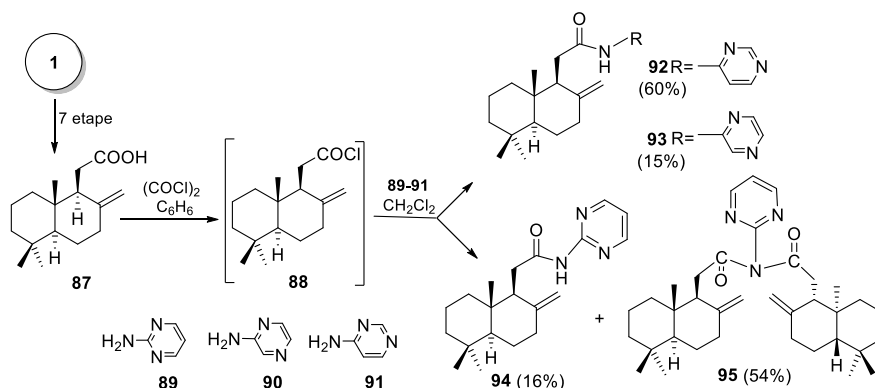
Schema 15. Sinteza compusilor cu fragmente guanidinice

Evaluarea activității antiproliferative și citotoxice a acestor compuși a demonstrat că, două dintre guanidinele testate **82** și **83** prezintă un nivel înalt de activitate asupra

fibroblastelor pulmonare umane MRC5 și asupra celulelor adenocarcinomului de colon [34, 35].

În scopul obținerii compușilor chirali cu schelet hibrid terpenic și azaheterociclic a fost elaborată o metodă eficientă de preparare a amidelor diazinice ale compușilor terpenici. În calitate de material inițial terpenic, care a condus la compusul homodrimanic optic activ a servit sclareolida **58**. Aceasta a fost transformată în acidul biciclohomofarnezeonic **87**.

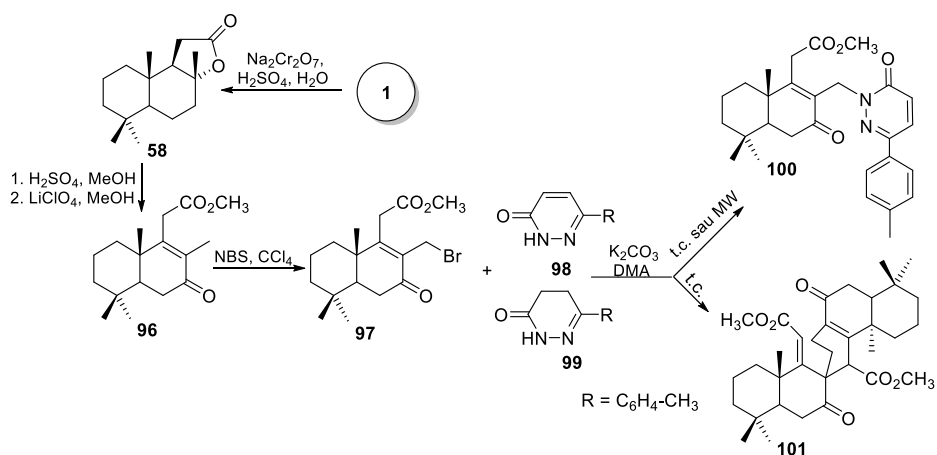
La tratarea acidului **87** cu clorura de oxalil a fost obținută cloranhidrida acidului biciclohomofarnezenic **88**, care a fost supusă reacției *in situ* cu diazinele corespunzătoare (Schema 16).



Schema 16. Sinteza amidelor acidului $\Delta^{8(13)}$ -biciclohomofarnezeonic.

La interacțiunea cloranhidridei acidului biciclohomofarnezenic **88** cu 2-aminopirimidina **89** au fost obținuți 2 compuși: 2-(dibiciclohomofarnezenoil)-aminopirimidina **95** și 11-(pirimidil-2-aminooxo)-11-dihomodrim-8(13)-ena **94** cu randamente de 51% și 15%, respectiv. În reacția cloranhidridei acidului biciclohomofarnezenic **88** cu 4-aminopirimidina **90** a fost preparată 11-(pirimidil-4-aminooxo)-11-dihomodrim-8(13)-ena **93** cu un randament de 69%, iar în cazul utilizării 2-aminopirazinei **91** în condiții similare a fost sintetizată 11-(pirazinil-2-aminooxo)-11-dihomodrim-8(13)-ena **92**. Așadar, procesul de bis-acilare are loc numai în cazul 2-aminopirimidinei. Fără îndoială, acest fenomen se datorează amplasării grupei aminice între cei doi atomi de azot ai inelului pirimidinic, care are un efect electronic inductiv, în urma căruia se activează grupa amină.

Aceste cercetări reprezintă o continuare a investigațiilor în chimia (-)-sclareolului **1** și include sinteze noi a compușilor norlabdanici, pornind de la esterul metilic al acidului 7-oxo-13,14,15,16-tetranorlabd-8-en-12-oic **96**. Acest compus poate fi obținut, în două etape cu un randament de 77%, din (+)-sclareolida **58** [38]. Cetoesterul **96** a fost supus reacției de bromurare cu NBS (1.5 eq.) cu formarea bromurii norlabdanice **97** (Schema 17).

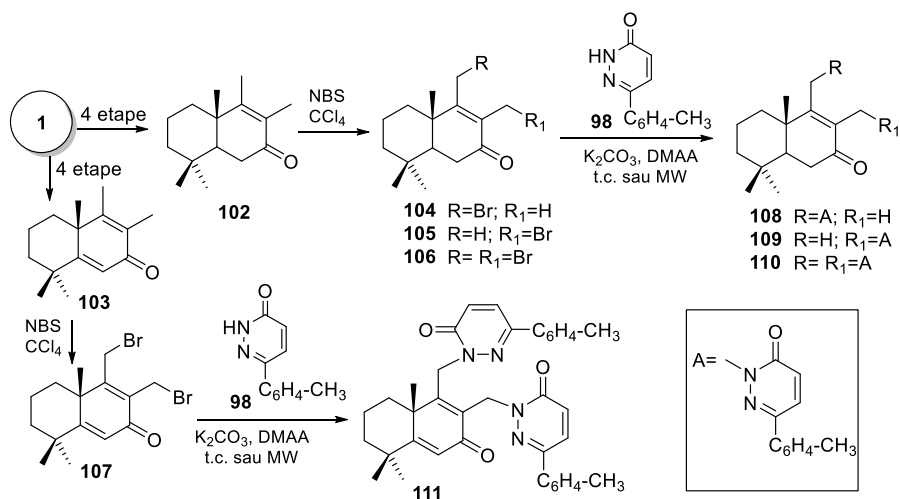


Schema 17. Reacția de cuplare a cetobromurii **97** cu *p*-tolilpiridazinonele **98** și **99**.

Cetobromura **97** a fost cuplată cu 6-(*p*-tolil)-3(2H)-piridazinona **98** în mediu bazic (K_2CO_3) în *N,N*-dimetilacetamidă (DMAA), cu formarea sesquiterpenoidei homodrimanice cu fragment piridazinonic **100**. Această reacție decurge datorită faptului că piridazinona **98** este o substanță nesaturată conjugată care mărește reactivitatea legăturii N-H, ușor deprotonabilă în condițiile bazice create [38] (Schema 17). Reacția de cuplare a fost realizată atât în condiții clasice, cât și la iradiere cu microunde.

Contrar așteptărilor, interacțiunea bromurii **97** cu 6-(*p*-tolil)-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona **99** în mediu bazic nu conduce la compusul cu schelet hibrid homodrimanic și piridazinonic dorit. Acest fapt se datorează unui sistem saturat care scade substanțial reactivitatea legăturii N-H. În aceste condiții are loc dimerizarea cetobromurii **97** cu formarea compusului **101** cu structură complexă, cu un randament de 70% [38]. Structurile acestor compuși au fost stabilite în baza datelor spectrale (1H și ^{13}C RMN, IR) și stereochimia compusului **101** a fost confirmată și prin metoda difracției cu raze X pe monocristal.

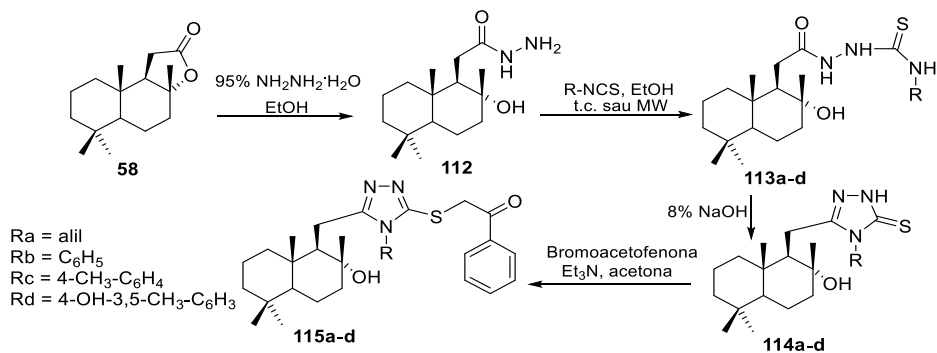
Cetonele pentanorlabdanice **102** și **103** sunt compuși inițiali importanți pentru sinteza compușilor cu schelet hibrid pentanorlabdanic și heterociclic. Acești compuși manifestă o reactivitate sporită datorită legăturii duble C-8, C-9 care activează atomii de carbon din pozițiile C-11 și C-12. Cetonele **102** și **103**, obținute din (+)-sclareolida **58**, au fost tratate cu *N*-bromsuccinimida (NBS) în tetraclorură de carbon cu formarea bromurilor: 11-bromo-drim-8(9)-en-7-ona **104**, 12-bromo-drim-8(9)-en-7-ona **105**, 11,12-dibromo-drim-8(9)-en-7-ona **106** și 11,12-dibromo-drim-5(6),8(9)-dien-7-ona **107**. Raportul acestora în amestec poate fi modificat variind cantitatea de *N*-bromsuccinimidă și durata reacției (Schema 18) [39].



Schema 18. Sinteza compusilor pentanorlabdanici cu fragment *p*-tolil-piridazinonic

Bromurile **104-105** au fost supuse reacției de cuplare cu piridazona **98**, în mediu bazic (KOH) în DMAA, atât în condiții clasice, cât și la iradiere cu microunde [39]. Bromurile **104** și **105**, cromatografic inseparabile, aflate în amestec într-un raport de 3:2 au fost cuplate cu 6-(*p*-tolil)-3(2*H*)-piridazona **98**. Producții de reacție monosubstituiți 11-*p*-tolil-piridazonil-drim-8(9)-en-7-ona **108** și 12-*p*-tolilpiridazonil-drim-8(9)-en-7-ona **109**, spre deosebire de bromurile inițiale **104** și **105**, au fost separate prin cromatografie pe coloană cu silicagel, randamentul sumar al acestora fiind de 85%.

În calitate de materie primă pentru sinteza compușilor cu unități structurale norlabdanice și 1,2,4-triazolice s-a utilizat 8 α -hidroxi-homodrim-11-hidrazida **112**. Acest compus a fost obținut din (+)-sclareolida **58**, într-o etapă, cu un randament de 85%, conform Schemei 19 [40].



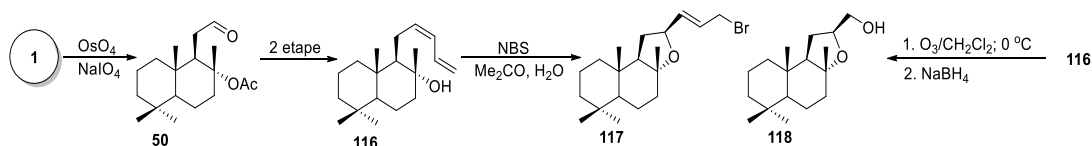
Schema 19. Sinteza compusilor norlabdanici cu fragment 1,2,4-triazolic

În continuare, hidrazida **112** a fost cuplată cu arilizotiocianții substituiți în etanol, cu formarea hidrazincarbotoamidelor **113a-d**. Sinteza hidrazincarbotoamidelor

113a-d prin metoda clasică, care include încălzirea, prezintă dezavantaje majore cum ar fi, durata reacției (270-300 min) și, în consecință, un consum mare de energie. Din aceste motive, s-a apelat la metodele neconvenționale și sinteza a fost realizată prin iradiere cu microunde, la o putere de iradiere constantă, dar variind temperatura. Conform datelor experimentale la iradiere cu microunde, timpul de reacție scade considerabil (de la câteva ore la 5 min), energia consumată, deasemenea scade considerabil, iar randamentele cresc ușor. Prin urmare, reacțiile de cuplare a hidrazidei **112** cu arilizotiocianati la iradiere cu microunde sunt considerate ecologice [40].

Hidrazincarbotoamidele **113a-d** au fost tratate cu soluție apoasă de NaOH (8%), la temperatura de 70°C, cu formarea compușilor norlabdanici respectivi cu fragment triazolic **114a-d** cu randamente de 70–83%. 1,2,4-Triazolii-S-substituiți **115a-d** au fost obținuți prin reacția de cuplare a triazolilor **114a-d** cu bromoacetofenona în acetonă în prezență de trietilamină (Et₃N). Teoretic, grupa funcțională N-H din fragmentul triazolic poate fi supusă reacției de condensare cu un derivat aromatic halogenat, în cazul nostru bromoacetofenona. Însă, fragmentul triazolic din compușii **114a-d**, există sub formă de două structuri de rezonanță. Unul dintre acestea este zwitterionul aromatic unde N1 este încărcat pozitiv, iar sulfurul este negativ. Excesul de electroni face ca sulfurul să fie un nucleofil care reacționează ușor cu bromoacetofenona.

Elaborarea multiplelor căi simple de scindare a catenei laterale a sclareolului până la compuși homodrimanici au condus la aplicarea acestora în scheme de sinteză a terpenoidelor ciclice cu catena laterală inferioară labdanilor. Astfel, aldehida **50**, obținută cu un randament bun la scindarea sclareolului cu tetraoxid de osmiu și periodat, a fost olefinată în condițiile reacției Wittig formând diena **116** (Schema 20).



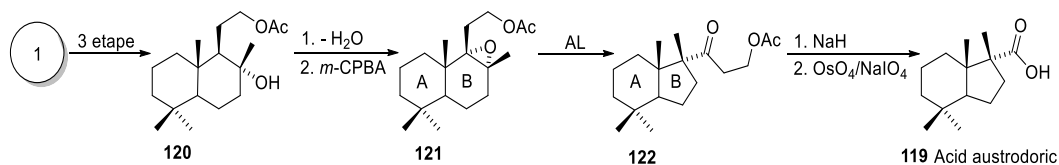
Schema 20. Sinteza unor derivați ai ambroxidului cu fragmentul tetrahidrofuranic funcționalizat.

Reactivitatea acestei diene a fost explorată cu scopul de a obține compuși heterociclici din seria tetrahidrofuranilor – derivați funcționalizați ai ambroxidului. Metoda cea mai simplă care a condus la rezultatul dorit a reprezentat o reacție de hidrobrominare-deshidratare intramoleculară (haloeterificare) inițiată de N-bromosuccinimidă (NBS). Astfel, tratarea dienei **116** cu NBS în acetonă apoasă a condus cu un randament excelent la derivatul tetrahidrafuranului bromurat **117** [41]. Utilitatea sintetică a bromului în poziția alilică a fost demonstrată la substituția cu diferiți nucleofili ca acetatul sau azida.

O transformare mai interesantă a dienei **116** a inclus o reacție de ozonizare, la care sistemul dienic conjugat a interacționat cu ozonul în mod specific, rezultând în scindarea numai a doi atomi de carbon ai dienei și ciclizare simultană prin intermediul grupei hidroxil terțiare din ciclul B [42]. Un astfel de rezultat a fost explicat prin reactivitatea specifică a intermediarilor Criegee bipolari, care printr-un atac electrofilic

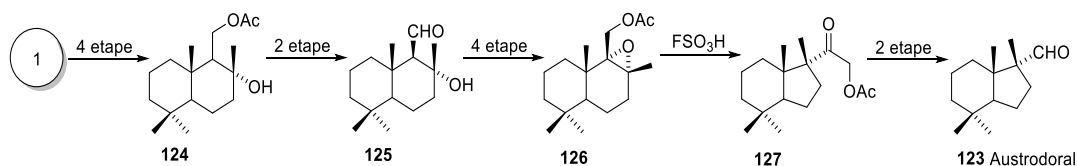
la oxigenul hidroxilic conduc la O-ciclizare. Reducerea finală cu borohidruza de sodiu generează alcoolul **118**, care a fost izolat cu un randament destul de bun (60%). De menționat faptul, că la efectuarea reacției la temperatură joasă (-70°C) compusul heterociclic **118** nu se formează defel, produsul majoritar izolat fiind diolul rezultat al scindării totale a catenei dienice.

Acidul austrodoric **119** este un compus nor-sesquiterpenic cu structură regrupată, izolat din nudibranchiile doridoide *Austrodoris kerguelensis*, care a fost legat biogenetic de un proces de contractare a ciclului B în scheletul drimanic sau homodrimanic, mult mai răspândite atât în sursele marine cât și terestre. În baza acestei ipoteze a fost elaborată o procedură biomimetică [42] de sinteză a acidului **119**, pornind de la compusul cunoscut **120** (Schema 21).



Schema 21. Sinteza acidului austrodoric.

Astfel, acetoxialcoolul **120** a fost deshidratat selectiv apoi epoxidat cu peracid în acetoxiepoxidul **121**. Etapa cheie a fost regruparea acestui epoxid sub influența unui acid Lewis (AL), care prin deschiderea grupei epoxid a declanșat o contractare a ciclului B, formându-se acetoxicetona **122** cu structură perhidrindanică. Această transformare a fost un prim exemplu de contractare directă a ciclului în sesquiterpenoidele homodrimanice și o confirmare a ipotezei biogenetice puse la baza compușilor din familia austrodoranilor, care în afară de acidul austrodoric include și aldehida **123**, numită sugestiv austrodoral și izolată de rând cu acidul **119** din aceeași sursă naturală. Sinteza aldehidei **123** a fost realizată [44] aplicând o strategie de îngustare a ciclului, similară cu cea prezentată mai sus. Succesiunea transformărilor respective este reprezentată în Schema 22.



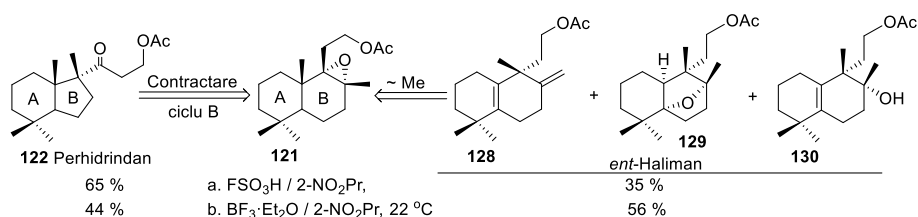
Schema 22. Sinteza austrodoralului.

Sucesiunea sintetică a pornit de la oxiacetatul drimanic **124**, obținut după o metodă cunoscută în 4 etape din sclareol **1**. Deshidratarea selectivă a acetatului **124** nu a decurs în mod analog cu substratul homodrimanic **120**. Această transformare a fost totuși posibilă în cazul hidroxialdehidei **125**, obținută la hidroliza esterului inițial, urmată de oxidare Swern. Tratarea ultimei cu iod în benzen la reflux a condus exclusiv la aldehida nesaturată tetrasubstituită, care după reducere, epoxidare și acetilare a dat epoxiacetatul **126** - substratul potrivit pentru reacția de îngustare a ciclului. Pentru

aceasta au fost testați mai mulți inițiatori acizi, dintre care acidul fluorsulfonic s-a dovedit a fi cel mai comod, asigurând izomerizarea către cetona **127** în condiții catalitice cu un randament cantitativ. Reducerea ulterioară și scindarea cu periodat a condus la aldehida naturală **123**. Austrodoralul s-a dovedit a fi extrem de toxic în concentrații de peste 10 ppm, ceea ce confirmă ipoteza inițială despre rolului ecologic al acestui compus în combaterea speciilor de pradă și protecția chimică a nudibranchiilor din specia *Austrodoris*.

Exemple de regrupări mai profunde de schelet sunt prezente în diverse aplicații sintetice ale terpenoidelor, necătând la dificultățile legate de necesitatea de a controla o cascadă de etape care afectează mersul și selectivitatea reacției. Ele reprezintă căi biosintetice general acceptate pentru diverse clase de compuși naturali și mimarea lor de asemenea pune la îndemână mijloace sintetice eficiente. În particular, reacția de contractare a ciclurilor, folosită cu succes în exemplele de mai sus pentru sinteza scheletului austrodoranic, la fel, reprezintă o abordare biomimetică relevantă. Etapa-cheie la sinteza acidului austrodoric a fost contractarea ciclului în substratul homodrimanic **121** sub acțiunea unui acid Lewis.

Însă randamentul relativ moderat al compusului-țintă cu structură perhidrindanică **122** (cca. 44 %) ne-a făcut să studiem mai profund produșii secundari obținuți la regruparea epoxidului **121** inițiată de diverși inițiatori acizi [45]. Această incursiune în subtilitățile reacției a condus la identificarea tuturor produșilor secundari, care s-au dovedit a fi, la fel, produși de regrupare, însă conform unei căi alternative celei de îngustare a ciclului B. Acest rezultat a stimulat interesul față de posibilitatea de a controla selectivitatea în aceste procese paralele. Produșii secundari identificați au rezultat în urma unei regrupări de schelet mai profunde (Schema 23).

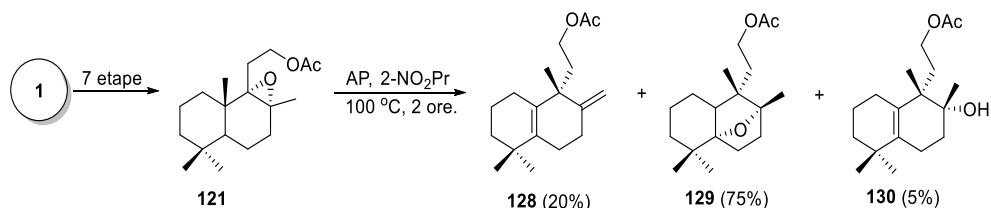


Schema 23. Regrupările biomimetice ale substratului homodrimanic.

Aceasta a inclus o cascadă de migrări de metil și ioni de hidrură, urmate de eliminarea protonului sau heterociclizare, conducând la compușii **128-130** cu structura sistemului biciclic al *ent*-halimanilor. Prin ajustarea condițiilor de reacție, inclusiv a temperaturii, naturii agentului acid și a solventului, s-a reușit de a atinge un control moderat al selectivității către produsul de contractare a ciclului sau către produșii cu schelet biciclic halimanic. Acest exemplu integrează două căi biogenetice diferite spre compuși cu structură perhidrindanică și halimanică. Diferența vădită între reactivitatea acetoxi-epoxidului homodrimanic **121** și analogului drimanic **126** este explicată prin efectul lungimii catenei laterale asupra stabilizării speciilor ionice de carboniu intermediare care conduc la ambele căi de regrupare scheletală.

Având ca scop îmbunătățirea selectivității în transpozițiile moleculare ale epoxidului homodrimanic **121**, a fost întreprins un studiu [46] de izomerizare a acestuia sub acțiunea unui catalizator solid ce reprezintă argilă pivotată de tip Al-H-Na-Lar (AP).

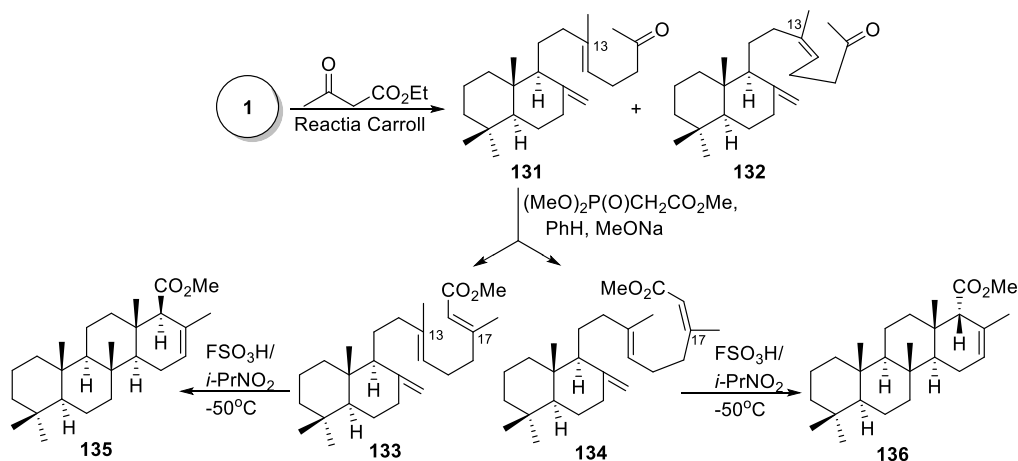
Producții predominanți de regrupare **128-130** cu schelet biciclic de tip *ent*-halimanic au fost obținuți în mod exclusiv, fără urme de produs de îngustare a ciclului **122**. Reacția a decurs la încălzire în 2-nitropropan la temperatura de 100 °C timp de 2 ore, rezultând cu formarea selectivă a oxidului **129** (75%), de rând cu cantități minore de acetati **128** și **130** (Schema 24).



Schema 24. Sinteza selectivă a scheletului *ent*-halimanic.

Modificarea chimică a sclareolului cu suplimentarea atomilor de carbon ai scheletului labdanic

Sesterterpenoidele scalaranice sunt compuși naturali care au fost izolați preponderent din organisme marine, - bureți de mare, moluște, dar recent au fost găsiți și în plante terestre, precum și în ciuperci. Compușii scalaranici posedă un spectru larg de activități biologice interesante, precum ar fi antifeedante, antimicrobiene, antifungice, antitumorale, citotoxice anti-HIV, antiinflamatoare etc. [47]. Noi am elaborat o cale de sinteză a sesterterpenoidelor scalaranice [48] pornind de la sclareolul (**1**) comercial accesibil (Schema 25).

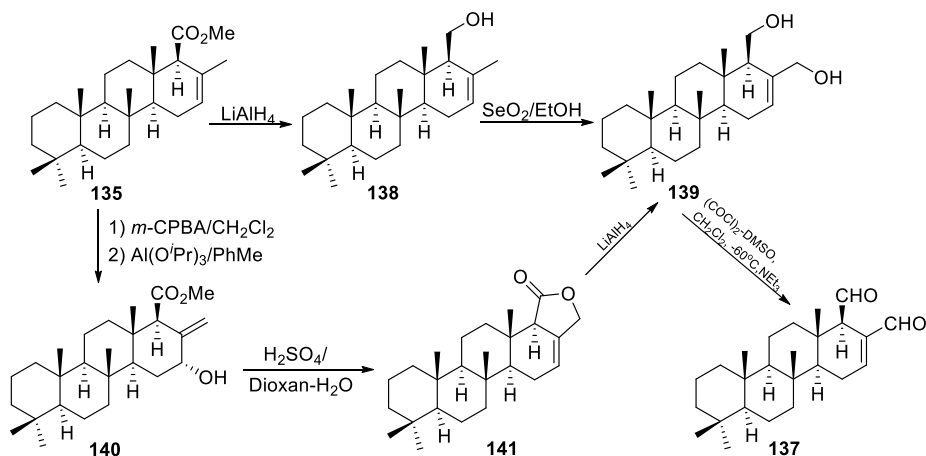


Schema 25. Sinteza esterilor scalaranici din sclareol.

Astfel sclareolul (**1**) a fost transformat în amestecul de cetone biciclice **131** și **132**, izomere la legătura dublă de atomul C-13. Cetona **131** (majoritară) a fost transformată în condițiile reacției Wittig-Horner, în esterii sesterterpenici **133** și **134**, izomeri la legătura dublă de la centrul C-17.

Ciclizarea superacidă la temperatură joasă, a esterilor **133** și **134**, a condus la formarea, cu randamente bune, respectiv, către esterii scalaranici **135** și **136**. Procesul de ciclizare este efectiv și structural selectiv [5, 49].

Având elaborată metoda de sinteză a esterilor scalaranici, noi am realizat o cale de sinteză a unor sesterterpenoide naturale. Astfel esterul **135** a fost punct de pornire în sinteza dialdehidei **137**. Reducerea esterului **135** în alcoolul scalaranic **138**, care apoi a fost oxidat, cu SeO_2 , în diolul scalaranic **139** cu un randament modest de ~28% (Schema 26).



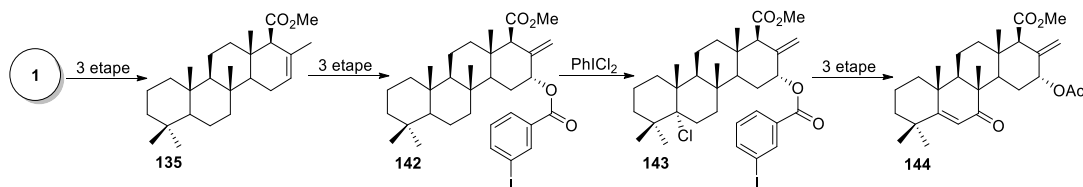
Schema 26. Sinteza (-)-12-deoxiscalaradialului (**137**).

Ultimul a fost oxidat în condițiile reacției Swern, în dialdehida scalaranică - 12-deoxiscalaradialul **137**. Randamentul total al acestei sinteze în 3 etape a constituit ~12%. Trebuie de menționat, că la momentul publicării acestei sinteze [49], dialdehida **137** nu era cunoscută în natură, fiind izolată mai târziu din bureții de mare *Cacospongia mollior* [50].

Dat fiind faptul că randamentul total al 12-deoxiscalaradialului **137** în sinteza descrisă mai sus a fost modest, noi am decis să elaborăm o altă cale de sinteză. Astfel esterul **135** a fost oxidat cu peracid în epoxidul corespunzător, apoi izomerizat cu $\text{Al}(\text{O}i\text{Pr})_3$ în hidroxiesterul alilic **140**, cu un randament total de 82% în 2 etape. Tratarea compusului **140** cu acid sulfuric a condus cu un randament bun (~81%) către lactonul scalaranic **141**. Reducerea cu LiAlH_4 a lactonului **141** a format cu un randament aproape cantitativ (~95%) diolul scalaranic **139**. Ultimul a fost transformat prin reacția Swern în compusul natural – (-)-12-deoxiscalaradialul **137** (~59%) [51]. Astfel randamentul total, după 5 etape, al dialdehidei scalaranice **137** constituie ~38%.

Sinteza sesterterpenoidelor scalaranice cu grupe funcționale oxigenate plasate în diferite poziții ale scheletului carbonic tetraciclic natural reprezintă o cale sigură de

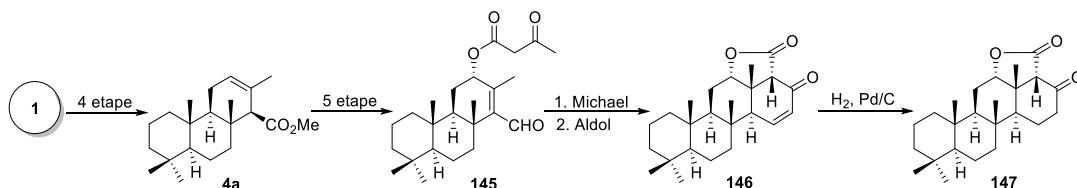
generare a noilor derivați cu potențial sporit al activității biologice. Una din strategiile sintetice de perspectivă în acest context include două etape distincte: asamblarea scheletului tetraciclic scalaranic și funcționalizarea ulterioară a grupelor C-H neactivate, realizată în transformări cu radicali liberi. Strategia a fost aplicată cu succes [52] la sinteza unor derivați scalaranici funcționalizați în ciclul B. Prima fază a sintezei a inclus 3 etape care au condus la creșterea catenei laterale în sclareol cu un reziduu de izopren și ciclizarea în scalaranul tetraciclic **135** (Schema 27).



Schema 27. Utilizarea funcționalizării radicalice spațiale pentru sinteza compușilor scalaranici.

În faza a doua compusul **135** a fost transformat în esterul acidului 3-iodobenzoic **142**, care a reprezentat un „suport” pentru generarea unui radical liber de clor și transferul specific al lui către atomul de hidrogen neactivat din poziția terțiară a ciclului B. Radicalul de clor a jucat rolul de inițiator care substituie eficient hidrogenul din ciclul B, formând clorderivatul **143**. Eliminarea ulterioară a acidului clorhidric a generat legătura dublă în ciclul B, care poate fi funcționalizată mai departe în diverse moduri. În acest caz a fost efectuată o oxidare alilică eficientă pentru a introduce o grupă funcțională oxigenată în structura scalaranului **144**.

O abordare sintetică total diferită pentru sinteza scheletului scalaranic funcționalizat simultan în ciclurile C și D a fost raportată recent [53]. Aceasta include o creștere succesivă a catenei laterale în scheletul diterpenic preluat din **1** cu instalarea simultană a grupelor funcționale în pozițiile necesare (Schema 28).

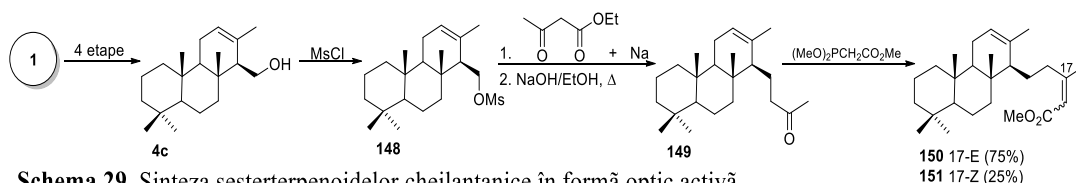


Schema 28. Sinteza 17-oxo-20-norscalaran-12 α ,19-O-lactonei.

Astfel esterul izocopalic **4a** obținut din **1** (Schema 1) a fost transformat ulterior în acetoacetatul **145** care a reprezentat substratul potrivit pentru o succesiune de reacții intramoleculare Michael-aldol, conducând la sistemul pentaciclic dorit **146**. Hidrogenarea catalitică a acestuia a culminat cu sinteza 17-oxo-20-norscalaran-12 α ,19-O-lactonei (**147**) – precursor important pentru prepararea scalaranilor funcționalizați.

Un exemplu de prenilare a sclareolului cu un reziduu de izopren adițional este prezentat în sinteza compușilor cu schelet cheilantanic în formă optic activă [54]. Pentru a avea acces la cheilantani cu catena pendentă β -orientată, care sunt larg răspândiți în sursele naturale, a fost elaborată o metodă de sinteză, bazată pe prenilarea

post-ciclizare [55]. Metoda poate fi abordată ca una biomimetică, deoarece o ciclizare enzimatică a Ger-Ger-OPP și adicție ulterioară a unei molecule de IP-OPP poate conduce la structura triciclică a cheilantanelor. În calitate de compus inițial în această cale de sinteză a fost utilizat compusul *ent*-izocopalic cunoscut **4c**, disponibil în câteva etape din **1** (Schema 1). Astfel, transformarea grupei hidroxil primare în una nucleofugă prin mezilare și alchilarea **148** cu enolatul derivat din esterul acetilacetic a condus la cetoesterul respectiv, care la hidroliză bazică s-a decarboxilat în metilcetona **149** (Schema 29).



Schema 29. Sinteza sesterterpenoidelor cheilantance în formă optic activă.

E de menționat faptul că aceasta a fost etapa critică a schemei date, randamentul cetonei **149** fiind unul relativ scăzut. Produsul secundar nedorit a fost diena rezultantă de la eliminarea acidului mezic în condiții bazice. Utilizarea grupei tozil în calitate de nucleofug a redus randamentul produsului de substituție și mai mult, făcându-ne să tragem concluzia că impedimentele sterice sunt cauza principală a procesului paralel de eliminare și în consecință a unui randament modest al metilcetonei dorite **149**. După cum era și de așteptat, etapa finală de olefinare cu trimetilfosfonoacetat a decurs fără impedimente, ceea ce a permis accesul la esterii **150** și **151** cu structură cheilantanică.

Concluzii și perspective

Chimia diterpenoidelor reprezintă un domeniu vast de cercetare, în care transformările sclareolului ocupă un loc major datorită disponibilității acestui compus din sursele regenerabile. Publicațiile științifice în care sclareolul este abordat în plan sintetic sunt abundente, numai în contribuția de față au fost prezentate peste 50 de lucrări recente ce reprezintă în marea majoritate numai contribuția autorilor. În același timp, fiecare an atestă noi și noi cercetări, inclusiv din domeniul sintezei organice în care sunt demonstrate posibilitățile flexibile de utilizare a diolului **1** pentru obținerea atât a compușilor naturali, cât și a analogilor acestora ce au proprietăți relevante. O simplă căutare pe portalul Scholar Google ne prezintă numai pentru 2021 peste 290 de referințe identificate după cuvântul cheie „sclareol”. Este bineînțeles, că potențialul de exploatare a acestui compus remarcabil este pe departe de a fi studiat pe deplin. Eforturile cercetătorilor de la Institutul de Chimie sunt de asemenea concentrate spre o valorificare cât mai eficientă a sclareolului în scopul identificării noilor derivați cu proprietăți importante, care ar putea găsi aplicație în diferite domenii a economiei naționale, în strictă corespundere cu principiile chimiei verzi.

Notă: Lucrarea a fost realizată cu suportul financiar al ANCD în cadrul proiectului „Noi substanțe cu potențial preventiv și terapeutic în baza compușilor naturali de origine vegetală și a metodelor moderne de sinteză organică”, cifra 20.80009.8007.03.

Referințe

1. ANASTAS, P. T., KIRCHHOFF, M. M. Origins, current status, and future challenges of green chemistry. In: *Acc. Chem. Res.* 2002, 35 (9), p. 686-694.
2. VLAD, P. F., UNGUR, N. D., BARBA, A. N., TATAROVA, L. E., GATILOV, YU. V., KORCHAGINA, D. V., BAGRIANSKAYA, I. YU., GATILOVA, V. P., SHMIDT, E. N., BARKHASH, V. A. Cyclization of some labdane alcohols and their acetates in superacids. In: *Zh. Org. Khim.* 1986, 22 (12), p. 2519-2533.
3. UNGUR, N. D., NGUEN, V. T., VLAD, P. F. Cyclization and rearrangements of diterpenoids x. superacid cyclization of labd-8,13E- and -8,13Z-dien-15-oic acids and their esters. In: *Chem. Nat. Compd.* 1991, 27 (5), p. 642-643.
4. VLAD, P. F., UNGUR, N. D., NGUEN V. H., PERUTSKY, V. B. Superacidic low-temperature cyclization of terpenols and their acetates. In: *Russ. Chem. Bull.* 1995, 44 (12), p. 2390-2403.
5. VLAD, P. F., UNGUR, N. D., NGUEN V. T. Superacidic Cyclization of Higher Terpenoid Acids and their Esters. In: *Russ. Chem. Bull.* 1995, 44 (12), p. 2404-2411.
6. CIMINO, G., DE ROSA, D., DE STEFANO, S., MINALE, L. Isoagatholactone, a Diterpene of a New Structural Type from the Sponge *Spongia officinalis*. In: *Tetrahedron* 1974, 30 (5), p. 645-649.
7. CIMINO, G., MORRONE, R., SODANO, G. New Deterpenes from *Spongia officinalis*. In: *Tetrahedron Lett.* 1982, 23 (40), p. 4139-4142.
8. VLAD, P. F., UNGUR, N. D. Cyclization and Rearrangement of Diterpenoids. III. Synthesis of Isoagatholactone and Methyl Spongia-13(16),-14-dien-19-oate. In: *Chem. Nat. Compd.* 1984, 20 (6), p. 685-691.
9. UNGUR, N. D., VLAD, P. F. Synthesis of Isoagathane Aldehydes Representing Metabolites of the Sponge *Spongia officinalis*. In: *Chem. Nat. Compd.* 1985, 21 (1), p. 42-47.
10. GAVAGNIN, M., UNGUR, N., CASTELLUCCIO, F., MUNIAN, C., CIMINO, G. New Minor Diterpenoid Diacylglycerols from Skin of the Dorid Nudibranch *Anisodoris fontaini*. In: *J. Nat. Prod.* 1999, 62 (2), p. 269-274.
11. UNGUR, N., GAVAGNIN, M., MOLLO, E., CIMINO, G. Absolute Stereochemistry of Anisodorin 5. In: *Tetrahedron: Asymm.* 1999, 10 (9) p. 1635-1636.
12. CIMINO, G., GAVAGNIN, M., SODANO, G., PULITI, R., MATTIA, C. A., MAZZARELLA, L. Verrucosin-A and -B, Ichthyotoxic Diterpenoid acid

- Glycerides with a new Carbon Skeleton from the Dorid Nudibranch *Doris verrucosa*. In: *Tetrahedron* 1988, 44 (8), p. 2301-2310.
13. DE PETROCELLIS, L., ORLANDO, P., GAVAGNIN, M., VENTRIGLIA, M., CIMINO, G., DI MARZO, V. Novel Diterpenoid Diacylglycerols from Marine Molluscs: Potent Morphogens and Protein Kinase C Activators. In: *Experientia* 1996, 52, p. 874-877.
 14. GRINCO, M., GÎRBU, V., GORINCIOI, E., BARBA, A., KULCIŢKI, V., UNGUR, N. The First Biomimetic Synthesis of a Diterpenoid with the *ent*-Verrucosin A/B Skeleton. In: *Tetrahedron Lett.* 2016, 57 (19), p. 2084-2086.
 15. MISCHNE, M. P., SIERRA, M. G., RUVEDA, E. A. Synthesis of the Novel Marine Diterpenes (\pm)-Isocopal-12-ene-15,16-dial, (\pm)-14-Epiisocopal-12-ene-15,16-dial, and (\pm)-15-Acetoxyisocopal-12-en-16-al from Methyl Isocopalate. In: *J. Org. Chem.* 1984, 49 (11), p. 2035-2037.
 16. UNGUR, N., GAVAGNIN, M., CIMINO, G. Synthesis of Diastereomeric *ent*-Isocopalic Acid Glycerides. In: *Tetrahedron Lett.* 1996, 37 (20), p. 3549-3552.
 17. UNGUR, N., GAVAGNIN, M., FONTANA, A., CIMINO, G. Synthetic Studies on Natural Diterpenoid Glyceryl Esters. In: *Tetrahedron* 2000, 56 (16), p. 2503-2512.
 18. UNGUR N., BARBA, A., VLAD, P. Cyclization and rearrangement of diterpenoids. VII. Composition of the hydrocarbon fraction of a mixture of the products of cyclization of manool and sclareol by ordinary acids. In: *Chem. Nat. Compd.* 1988, 24 (5), p. 612-614.
 19. MORARESCU, O., TRAIȘTARI, M., BARBA, A., DUCA, Gh., UNGUR, N., KULCIŢKI, V. One - step selective synthesis of 13-epi-manoyl oxide. In: *Chem. J. Mold.* 2021, 16 (1), p. 99-104.
 20. KOVAL'SKAYA, S. S., KOZLOV, N. G., KULCITKI, V., ARICU, A., UNGUR, N. Transformation of sclareol under Ritter reaction conditions. In: *Russ. J. Org. Chem.* 2013, 49 (2), p. 303-311.
 21. KOVAL'SKAYA, S. S., KOZLOV, N. G., KULCITKI, V., ARICU, A., UNGUR, N. (-)-Sclareol conversion in the Ritter's reaction conditions. In: *Chem. J. Mold.* 2012, 7 (2), p. 147-148.
 22. VLAD, P. F., ARIKU, A. N. Ozonolytic transformations of labdane diterpenoids. *Russ. Chem. Rev.* 1992, 61 (7), p. 716-730.
 23. VLAD, P. F., ARIKU, A. N., KOLTSA, M. N. Investigation of the products of the ozonolysis of sclareol and the pathways for their formation. In: *Chem. Nat. Compd.* 1991, 27 (4), p. 436-443.
 24. ИНСТИТУТ ХИМИИ АН МССР. Способ получения 14, 15-биснор-8а,13-эпоксилабд-12-ена: Авторское свидетельство 1779026А 1, SU, С 07 D 311/92, С 07 С 45/40. ВЛАД, П.Ф., АРЬКУ, А. Н. КОЛЦА, М. Н. Дата подачи заявки 10.04.90.

25. ARIKU, A. N., KOLTSA, M. N., VLAD, P. F. Synthesis of bicyclohomofarnesane compounds by the ozonization of "sclareoloxide". In: *Chem. Nat. Compd.* 1991, 27 (2), p. 179–183.
26. ARIKU, A. N., KOLTSA, M. N., VLAD, P. F., KUKOVINETS, O. S.; ODINOKOV, V. N.; TOLSTIKOV, G. A. Synthesis of bicyclohomofarnesane derivatives from bis(8 α ,13-epoxy-14,15-bisnorlabd-12-en-12-yl)methane - a product of the ozonolysis of sclareol. In: *Chem. Nat. Compd.* 1991, 27 (3), p. 295–300.
27. ИНСТИТУТ ХИМИИ АН МССР. *Способ получения норамбреинолида*. Авторское свидетельство 1633784 А 1, SU, С 07 D 307/92. Изобретатели: ВЛАД, П. Ф., КОЛЦА, М. Н., АРЬКУ, А. Н. Дата подачи заявки 24.07.89.
28. KUCHKOVA, K. I., CHUMACOV, YU. M., SIMONOV, YU. A., BOCELLI, G., PANASENCO, A. A., VLAD, P. F. A Short Efficient Synthesis of 11-monoacetate of Drimane-8 α -11-diol from Norambreinolide. In: *Synthesis* 1997, (9), p. 1045-1048.
29. INSTITUTUL DE CHIMIE DIN MOLDOVA. *Procedeu de obținere a 12-hidroperoxi-8 α ,12-epoxi-11-bishomodriman-8 α -ol-12-onă*. Brevet MD nr. 2639 C2, C 07 B 41/14; C 07 C 409/20; C 07 D 307/92. Inventatori: VLAD, P., CUCICOVA, C., ARÎCU, A. Cererea depusă 14.02.2003, BOPI nr 12/2004.
30. INSTITUTUL DE CHIMIE DIN MOLDOVA. *12-Hidroperoxy-8 α ,12-epoxy-11-bishomodriman – pentru utilizare în tratamentul afecțiunilor micotice*. Brevet MD nr. 3358 G2, MD, A 61 K 31/327; C 07 B 41/14; C 07 C 409/20; C 07 D 307/92; A 61 P 31/10. Inventatori: VLAD, P. F., CUCICOVA, C., ARÎCU, A., PRISACARI, V., DIZDARI, A., RUDIC, V., MUȘET, G., SAVIN, A., PROCA, L., GONCIAR, V. Cererea depusă 14.07.2006, BOPI nr 7/2007.
31. VLAD, P. F., KUCHKOVA, K. I., ARICU, A. N., DELEANU, K. Efficient synthesis of onoceranediol from 12-hydroperoxy-8 α ,12-epoxy-11-bishomodrimane. In: *Russ. Chem. Bull.* 2005, 54 (11), p. 2656-2658.
32. KUCHKOVA, K. I., ARÎCU, A. N., VLAD, P. F., DELEANU, C., NICOLESCU, A. Synthesis of N-containing drimane sesquiterpenoids from 11-dihomodriman-8 α -ol-12-one. In: *Chem. Nat. Compd.* 2010, 46 (4), p. 539-544.
33. DUCA, GH., ARICU, A., KUCHKOVA, K., SECARA, E., BARBĂ, A., DRAGALIN, I., UNGUR, N., SPENGLER, G. Synthesis, structural elucidation and biological evaluations of new guanidine-containing terpenoids as anticancer agents. In: *Nat. Prod. Res.* 2019, 33 (21), p. 3052-3056.
34. INSTITUTUL DE CHIMIE DIN MOLDOVA. *Compusul 1-(4-((4aS,8aS)-2,5,5,8a-tetrametil-3,4,4a,5,6,7,8,8a-octahidronaftalen-1-il)butan-2-il)guanidină cu activitate antiproliferativă și citotoxică*. Brevet MD nr. 4630 C1, Inventatori: ARÎCU, A., KUCHKOVA, K., DUCA, GH., SECARA, E., BARBA, A., DRAGALIN, I., UNGUR, N. BOPI 5/2019.

35. INSTITUTUL DE CHIMIE DIN MOLDOVA. *Compusul N-carbamimidoil-2-((8aS)-2,5,5, 8a-tetrametil-3,4,4a,5,6,7,8,8aocahidronaftalen-1-il)acetamidă cu activitate antiproliferativă și citotoxică*. Brevet MD nr. 4631 C1, Inventatori: ARÎCU, A., KUCHKOVA, K., DUCA, GH., SECARA, E., BARBA, A., DRAGALIN, I., UNGUR, N. BOPI 5/2019.
36. KUCHKOVA, K., ARICU, A., BARBA, A., VLAD, P., SHOVA, S., SECARA, E., UNGUR, N., ZBANCIOC, Gh., MANGALAGIU, I. An efficient and straightforward method to new organic compounds: homodrimane sesquiterpenoids with diazine units. In: *Synlett*, 2013, 24 (6), p. 697-700.
37. KUCHKOVA, K., ARICU, A., SECARA, E., BARBA, A., VLAD, P., UNGUR, N., TUCHILUS, C., SHOVA, S., ZBANCIOC, Gh., MANGALAGIU, I. Design, synthesis, and antimicrobial activity of some novel homodrimane sesquiterpenoids with diazine skeleton. In: *Med. Chem. Res.* 2014, 23 (3), p. 1559–1568.
38. CIOCARLAN, A., ARICU, A., LUNGU, L., EDU, C., BARBA, A., SHOVA, S., MANGALAGIU, I., D'AMBROSIO, M., NICOLESCU, A., DELEANU, C., VORNICU, N. Synthesis of novel tetranorlabdane derivatives with unprecedented carbon skeleton. In: *Synlett* 2017, 28(5), p. 565–571.
39. ARICU, A., CIOCARLAN, A., LUNGU, L., BARBA, A., SHOVA, S., ZBANCIOC, G., MANGALAGIU, I., D'AMBROSIO, M., VORNICU, N. Synthesis, antibacterial, and antifungal activities of new drimane sesquiterpenoids with azaheterocyclic units. In: *Med. Chem. Res.* 2016, 25(10), p. 2316-2323.
40. LUNGU, L., CIOCARLAN, A., BARBĂ, A., SHOVA, S., POGREBNOI, S., MANGALAGIU, I., MOLDOVEANU, C., VORNICU, N., AMBROSIO, M., BABAK, M., ARION, V., ARICU, A. Synthesis and evaluation of biological activity of homodrimane sesquiterpenoids bearing hydrazinecarbothioamide or 1,2,4-triazole unit. In: *Chem. Heterocyc. Compd.* 2019, 55 (8), p. 716-724.
41. KULCITKI, V., CARA, M., BOURDELAIS, A., SCHUSTER, T., BADEN, D. Synthesis of a functionalized furan fragment through bromination – cyclization of a conjugated diene. In: *Chem. J. Mold.* 2010, 5 (1), p. 118-120.
42. KULCITKI, V., BOURDELAIS, A., SCHUSTER, T., BADEN, D. Synthesis of a functionalized furan *via* ozonolysis—further confirmation of the Criegee mechanism. In: *Tetrahedron Lett.* 2010, 51 (31), p. 4079–4081.
43. KULCITKI, V., UNGUR, N., GAVAGNIN, M., CARBONE, M., CIMINO, G. Synthesis and Absolute Stereochemistry of Marine nor-Sesquiterpene Austrodoric Acid. In: *Tetrahedron: Asymm.* 2004, 15 (3), p. 423-428.
44. KULCITKI, V., UNGUR, N., GAVAGNIN, M., CARBONE, M., CIMINO, G. Further Synthetic Studies Towards the Austrodorane Skeleton: Synthesis of Austrodoral. In: *Eur. J. Org. Chem.* 2005, (9), p. 1816–1822.
45. KULCITKI, V., SÎRBU, T., UNGUR, N. On the peculiarities of the ring contraction reactions of homodrimanes *via* acid mediated epoxide rearrangement. In: *Chem. J. Mold.* 2011, 6 (1), p. 110-112.

46. SÎRBU, T.; GIRBU, V., HARGHEL, P., RUSU, V., UNGUR, N., KULCIȚKI, V. Selectivity Control in Terpene Rearrangements: A Biomimetic Synthesis of the Halimanic Bicyclic Core. In: *Synthesis*, 2019, 51 (9), p. 1995-2000.
47. UNGUR, N.; KULCIȚKI, V. Synthetic Paths Towards Scalaranes: Assembling the Scalaranic Skeleton and Following Transformations. In: *Phytochem. Rev.* 2004, 3, (3), 401-415.
48. VLAD, P. F., UNGUR, N. D., NGUEN, V. T. Superacidic Cyclization of Bicyclogeranylfarnesic and Geranylfarnesic Acids and Their Esters. *Mendeleev commun.* 1992, (2), p. 61-62.
49. UNGUR, N. D., NGUEN, V. T., VLAD, P. F. Synthesis of 12-Deoxyscalaralactone and 12-Deoxyscalaradiol. In: *Chem. Nat. Compd.* 1992, 28 (5), p. 435-438.
50. DE ROSA, S., PULITI, R., CRISPINO, A., DE GIULIO, A., MATTIA, C. A., MAZZARELLA, L. A New Scalarane Sesterterpenoid from the Marine Sponge *Cacospongia mollior*. In: *J. Nat. Prod.* 1994, 57 (2), p. 256-262.
51. UNGUR, N., GAVAGNIN, M., CIMINO, G. Synthesis of (-)-12-Deacetoxyscalaradiol. In: *Nat. Prod. Lett.* 1996, 8 (2), p. 275-280.
52. KULCIȚKI, V., UNGUR, N., GAVAGNIN, M., CASTELLUCCIO, F. AND CIMINO, G. Ring B functionalization of scalarane sesterterpenes by radical relay halogenation. In: *Tetrahedron*, 2007, 63 (32), p. 7617-7623.
53. MORARESCU, O., GRINCO, M., KULCIȚKI, V., SHOVA, S., UNGUR, N. An alternative approach towards C-12 functionalized scalaranic sesterterpenoids. Synthesis of 17-oxo-20-norscalarane-12 α ,19-O-lactone. In: *Marine Drugs*, 2021, 19(11), p. 636.
54. UNGUR, N.; KULCIȚKI, V. Occurrence, biological activity and synthesis of cheilanthane sesterterpenoids. In: *Tetrahedron*, 2009, 65 (19), 3815-3828.
55. UNGUR, N., KULCIȚKI, V., GAVAGNIN, M., CASTELLUCCIO, F., CIMINO, G. Synthesis of optically active 14 α - and 14 β -cheilanthanic esters. In: *Synthesis*, 2006, (14), p. 2385-2391.