ROMÂNIA
MINISTERUL EDUCAȚIEI
UNIVERSITATEA „VASILE ALECSANDRI” DIN BACĂU
Calea Mărăşeşti, Nr. 157, Bacău, 600115
Tel. +40-234-542411, fax +40-234-545753
www.ub.ro; e-mail:rector@ub.ro

Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA), Orléans (France)

TEZĂ ÎN COTUTELĂ INTERNAȚIONALĂ

Domeniu : Ingineria Mediului

SUSTENABILITATEA METODOLOGIEI DE OBȚINERE A PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR ȘI A PIRAZOLO[3,4-*c*]PIRAZOLILOR

REZUMAT

Prezentată de către **Nicu-Cosmin OSTACHE**

TEZĂ coordonată de:

Profesor FÎNARU Adriana-Luminița	Universitatea « Vasile Alecsandri » din Bacău
Profesor SUZENET Franck	Universitatea din Orléans
Profesor emerit GUILLAUMET Gérald	Universitatea din Orléans

~ BACĂU - 2022 ~

MULȚUMIRI

Lucrările prezentate în acest manuscris au fost realizate (în cotutelă) în cadrul Centrului de Chimie Aplicată și Inginerie de Proces (CAIP), de la Universitatea „Vasile Alecsandri” din Bacău (România), sub conducerea Prof. univ. dr. Adriana-Luminița Fînaru și al Institutului de Chimie Organică și Analitică (ICOA) de la Universitatea din Orléans (Franța), sub conducerea Prof. univ. dr. Franck Suzenet și co-încadrate de Prof. em. univ. dr. Gérald Guillaumet. Activitatea a fost supravegheată și de membrii comisiei de îndumare din cadrul Școlii de Studii Doctorale a Universității „Vasile Alecsandri” Bacău : Ș. l. dr. ing. Irina-Claudia Grig Alexa, Ș. l. dr. ing. Oana-Irina Patriciu și Ș. l. dr. ing. Elena-Mirela Suceveanu precum și de Dr. Marie-Aude Hiebel de la Universitatea din Orléans.

Aș dori să mulțumesc din toată inima directorilor de teză Prof. univ. dr. Adriana-Luminița Fînaru și Prof. univ. dr. Franck Suzenet, pentru încrederea pe care mi-au arătat-o oferindu-mi acest subiect. Le sunt recunoscător din suflet pentru sprijinul acordat, entuziasmul și sfaturile lor clare pe care am avut ocazia să le primesc și care m-au ghidat în anii de studiu ai tezei de doctorat.

De asemenea, aș dori să-i mulțumesc sincer Prof. em. univ. dr. Gérald Guillaumet, co-director al tezei mele, pentru imensa lui disponibilitate, buna dispoziție, dar mai ales pentru rigoarea științifică pe care am avut șansa să o dobândesc alături de dânsul în urma întâlnirilor noastre extrem de dese.

Le sunt extrem de recunoscător domnului Carol Schnakovszky, Prof. univ. dr. ing. la Universitatea „Vasile Alecsandri” din Bacău, doamnei Valérie Thiery, Prof. univ. dr. la Universitatea din La Rochelle, doamnei Michaela Dina Stănescu, Prof. univ. dr. ing. la Universitatea Politehnică din București și Prof. em. la Universitatea „Aurel Vlaicu” din Arad precum și domnului Valentin Nedeff, Prof. univ. dr. ing. Dr. h. c. la Universitatea „Vasile Alecsandri” din Bacău, pentru interesul lor manifestat către această lucrare și pentru onoarea pe care mi-au făcut-o acceptând să o evalueze.

Profunda mea recunoștință este exprimată de asemenea și către îndrumătorii mei de teză și anume Ș. l. dr. ing. Oana-Irina Patriciu, Ș. l. dr. ing. Irina-Claudia Grig Alexa, Ș. l. dr. ing. Elena-Mirela Suceveanu și Dr. Marie-Aude Hiebel, pentru sprijinul, răbdarea și încurajările lor permanente.

Mulțumirile mele se adresează celor apropiați care m-au însoțit pe parcursul aventurii mele: Dr. Doina S., Dr. Floris B., Dr. Matthieu D., Dr. Vincent G., Dr. Khadija G. și Dr. Loïc H.

În sfârșit, aș dori să mulțumesc din suflet familiei mele, în special părinților, surorilor și fratelui meu pentru că m-au susținut în toți anii de studiu și pentru că m-au motivat să îmi depășesc mereu limitele!

Un ultim gând se adresează celor mai apropiați prieteni ai mei, pentru sprijinul lor moral și mai ales Laviniei care mi-a fost alături și pentru că a crezut în mine!

CUPRINS

ABREVIERI				4	3
LISTĂ DE SCHEME				7	N/A
LISTĂ DE TABELE				8	N/A
LISTĂ DE FIGURI				11	N/A
INTRODUCERE – Obiectivele și structura manuscrisului				12	5
Capitolul I. STUDIU BIBLIOGRAFIC PRIVIND APLICAREA CONCEPTULUI DE CHIMIE VERDE ŞI METODELE DE EVALUARE A IMPACTULUI ASUPRA MEDIULUI ÎN PROCESUL DE SINTEZĂ AL MOLECULELOR BIOACTIVE				15	7
1.1.	**Noțiuni generale – conceptul de chimie verde/chimie durabilă**			16	7
1.2.	**Economia circulară și chimia verde**			24	10
1.3.	**Solvenții și impactul lor asupra mediului**			26	11
1.4.	**Metode de evaluare ale chimiei verzi**			44	11
Capitolul II. EVALUAREA ECO-COMPATIBILĂ A METODOLOGIEI DE SINTEZĂ A PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR ŞI A PIRAZOLO[3,4-*c*]PIRAZOLILOR				48	13
2.1.	**Analiza indicatorilor verzi pentru etapele cheie în sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor**			49	13
	2.1.1.	Etapa de condensare pentru formarea hidrazonelor **4a-h** – evaluarea indicatorilor ecologici		50	14
		2.1.1.1.	Testul inițial al etapei de condensare cu fenilhidrazină	50	N/A
		2.1.1.2.	Optimizarea etapei de condensare cu fenilhidrazină	53	14
		2.1.1.3.	Generalizarea pentru alte hidrazine	55	16
	2.1.2.	Etapa de ciclizare a hidrazonei **4a** pentru formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** – evaluarea indicatorilor verzi		56	16
		2.1.2.1.	Reacția de cuplare Buchwald-Hartwig optimizată	56	N/A
		2.1.2.2.	Reacția de condensare Ullmann optimizată	58	N/A
	2.1.3.	Generalizarea reacției de condensare Ullmann cu alte hidrazone pentru obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor **5a-h**		60	17
	2.1.4.	Evaluarea indicatorilor verzi pentru cele două etape folosite la obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** plecând de la tiazolul **3**		61	18
		2.1.4.1.	Formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** în două etape prin reacția de cuplare Buchwald-Hartwig	62	N/A
		2.1.4.2.	Formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** în două etape prin reacția de condensare Ullmann	63	N/A
	2.1.5.	Formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** într-o manieră „one-pot” prin		65	20

		reacția de condensare Ullmann			
	2.1.6.	Generalizarea reacției „one-pot” pentru obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor **5b-h** prin reacția de condensare Ullmann		68	21
2.2.	**Analiza indicatorilor verzi pentru etapele cheie în sinteza pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor**			69	21
	2.2.1.	Etapa „one-pot” de condensare și ciclizare – evaluarea indicatorilor verzi		70	22
		2.2.1.1.	Testul inițial al obținerii pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor cu fenilhidrazina și în prezență de ligand (DMEDA)	70	N/A
		2.2.1.2.	Optimizarea etapei „one-pot” de condensare cu hidrazina și de ciclizare fără ligand	73	N/A
		2.2.1.3.	Generalizarea pentru alte hidrazine	75	22
2.3	**Solvenții utilizați pentru obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor și a pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor**			76	23
	2.3.1.	Solvenții utilizați în etapele cheie ale sintezei		76	N/A
	2.3.2.	Solvenții utilizați în etapele de purificare a compușilor obținuți		79	N/A
Capitolul III. EVALUAREA TOXICITĂȚII PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR ȘI A PIRAZOLO[3,4-*c*]PIRAZOLILOR				83	25
3.1.	**Rezumatul sintezei pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor**			86	N/A
3.2.	**Rezumatul sintezei pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor**			87	N/A
3.3.	**Evaluarea activității biologice a noilor sisteme bisheterociclice azotate sintetizate**			89	25
Capitolul IV. METODOLOGIE EXPERIMENTALĂ				95	N/A
4.1.	**Metodologii de sinteză și de analiză structurală**			96	N/A
	4.1.1.	Aparatură și instrumente de sinteză și de analiză		96	N/A
	4.1.2.	Proceduri generale de sinteză pentru compușii **4a-h** și **5a-h**		97	N/A
	4.1.3.	Proceduri generale de sinteză pentru 1-metil-6-aril-pirazolo[3,4-*c*]pirazolii **13a-i**		105	N/A
4.2.	**Metodologii de calcul al punctelor de penalitate utilizate în analiza EcoScale și a indicatorilor de masă ai chimiei verzi**			109	N/A
4.3.	**Determinarea activității citotoxice *in vitro***			111	N/A
CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE				113	27
DISEMINAREA ȘI VALORIFICAREA REZULTATELOR ORIGINALE				118	30
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ				121	32

În rezumatul tezei se prezintă o parte din rezultatele cercetărilor experimentale proprii, concluziile generale și o bibliografie selectivă. Numerotarea capitolelor, subcapitolelor, tabelelor, figurilor din prezentul rezumat este identică numerotării din teza de doctorat.

ABREVIERI

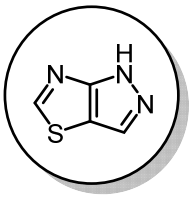
AcOEt	Acetat de etil
AcOH	Acid acetic
AcONa	Acetat de sodiu
ACV ≡ LCA	Analiza de ciclu de viață (Life Cycle Analysis)
ADME	Absorbție, Distribuție, Metabolism, Excreție
ALH	Solvent capabil să accepte o legătură de hidrogen
PFA ≡ API	Produși farmaceutici activi (Active pharmaceutical ingredients)
Ar	Aril
BASF	Baden Aniline and Soda Factory
cat.	Catalizator sau catalitic
CMR	Substanțe cancerigene, mutagene și toxice pentru reproducere
et al.	Și restul (de colaboratori)
CPME	Ciclopentil metil eter
CuTC	Cupru (I) tiofen 2-carboxilat
dba	1,3-Dibenzilidenacetonă
DCM	Diclorometan
DIBAL-H	Hidrură de diizobutil aluminiu
DLH	Solvent donor de legături de hidrogen
DMA	Dimetilacetamidă
DMEDA	*N*,*N*'-Dimetiletilendiamină
DMF	*N*,*N*-Dimetilformamidă
EA ≡ AE	Economie de atomi (Atom economy)
EATOS	Instrument de Evaluare a Mediului pentru Sinteza Organică
eq.	Echivalent molar
EtOH	Etanol
FLASC	Analiza Rapida a Ciclui de Viață pentru Chimia de Sinteză
FS ≡ SF	Factor Stoechiometric (Stoechiometric Factor)
gEMR ≡ gRME	Eficiența Masică globală a Reacție (Global Reaction Mass Efficiency)
GSK	GlaxoSmithKline
GVL	gamma-Valerolactonă
h	Ore
IC_{50}	Concentrația care induce o reducere de 50% a creșterii celulare
MeCN ≡ ACN	Acetonitril
MeOH	Metanol
MO	Microunde
MTT	Bromură de metiltiazolildifenil-tetrazoliu
NBP	*N*-butil-2-pirolidinonă
NBS	*N*-Bromosuccinimidă
ODD	Obiective de Dezvoltare Durabilă
ONU	Organizația Națiunilor Unite
$Pd(PPh_3)_4$	Tetrakis (trifenilfospfină) paladiu(0)
PE ≡ EP	Eter de petrol
Ph	Fenil
IMP ≡ PMI	Intensitatea Masei Procesului (Process Mass Intensity)

Rdt.	Randament
$RME_C \equiv RME_{Curzons}$	Eficiența Masică a Reacției după Curzons
T.a. sau t.a. sau RT	Temperatura camerei
THF	Tetrahidrofuran
Xantphos	4,5-Bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxantenă

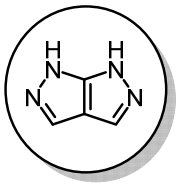
INTRODUCERE – Obiectivele și structura manuscrisului

Structurile heterociclice azotate sunt entități prezente adesea în multe clase de substanțe naturale, ele fiind și componente de bază ale compușilor terapeutici. De aceea, comunitatea chimiștilor depune eforturi constante pentru a accesa aceste structuri în mod selectiv și eficient.

În acest context, în afară de sinteza convențională, adoptarea strategiilor ecologice poate oferi un mijloc creativ pentru sinteza ulterioară a moleculelor pe bază de motive pirazolo[3,4-*d*]tiazol și pirazolo[3,4-*c*]pirazol printr-o abordare durabilă.



Pirazolo[3,4-*d*]tiazoli



Pirazolo[3,4-*c*]pirazoli

În prezent, conceptul de chimie verde a devenit un instrument de promovare a dezvoltării durabile atât în laboratoarele de cercetare cât și în industrie. Cele douăsprezece principii ale chimiei verzi stau la baza ghidurilor adresate celor care doresc să urmeze tendința chimiei verzi. Acestea constituie un reper pentru acțiunile ce pot fi întreprinse de specialiști din diferite domenii ale chimiei (sinteza organică, ingineria chimică sau chimia analitică) pentru a genera produse și procese chimice mai prietenoase cu mediul.

Dintre provocările chimiei verzi, putem aminti controlul procesului și evaluarea caracterului ecologic al procedeelor adoptate. Controlul în chimia durabilă trebuie înțeles ca o posibilitate de a selecta cea mai ecologică opțiune. Dezvoltarea și aplicarea procedurilor de măsurare permit compararea caracterului „verde" al soluțiilor existente cu cele nou dezvoltate. În evaluarea impactului asupra mediului al proceselor chimice sunt utilizați în prezent diferiți factori caracterizați prin niveluri diferite de complexitate.

Obiectivele lucrării

Această teză, dedicată domeniului Ingineriei Mediului, a fost realizată pe baza rezultatelor obținute în prima etapă a studiilor noastre ce au vizat obținerea de noi sisteme heterociclice azotate potențial bioactive, respectiv „*Sinteza și funcționalizarea biciclilor 5-5 poliazotați: pirazolo[3,4-d]tiazoli și pirazolo[3,4-c]pirazoli*"(teză susținută pe 4 aprilie 2019 la Universitatea din Orléans, Franța, în domeniul Chimie/disciplina Chimie organică, în cadrul acordului de cotutelă între Universitatea „Vasile Alecsandri" din Bacău și Universitatea din Orléans).

În acest context, obiectivele prezentei lucrării sunt orientate către:

✓ evaluarea metodologiei de sinteză[1] utilizată pentru obținerea de noi compuși (**21** pirazolo[3,4-*d*]tiazoli[2] și **30** pirazolo[3,4-*c*]pirazoli[3]) cu potențială activitate biologică din perspectiva conceptului de chimie verde/durabilă;
✓ investigarea potențialului terapeutic al acestor molecule, respectiv testarea *in vitro* a capacității citotoxice a celor două serii de analogi originali, în scopul dezvoltării de noi structuri cu proprietăți antitumorale.

Teza este structurată în patru capitole:

- Primul capitol al acestei teze este dedicat noțiunilor de bibliografie privind concepte precum „chimie verde", „inginerie verde", „economie circulară" și importanța aplicării acestora în dezvoltarea de noi sinteze/procese mai ecocompatibile în vederea reducerii impactului negativ asupra mediului. De asemenea, au fost prezentate principalele metode de evaluare a chimiei verzi (economia de atomi, factorul E, eficiența masică globală a reacție (gRME), factorul stoechiometric (FS), EATOS, analiza EcoScale, analiza ciclului de viață (LCA), ghidul de solvenți CHEM21, etc.)
- În al doilea capitol atenția a fost dirijată către aspectul verde al reacțiilor noastre cheie utilizate pentru a construi molecule originale pentru fiecare familie de compuși. Pentru a putea compara diferitele protocoale ale aceleiași sinteze și pentru a determina care dintre ele respectă cel mai mult mediul, s-au aplicat criteriile analizei EcoScale, ale ghidului de solvenți CHEM21 și s-au calculat o serie de indicatorii de masă specifici chimiei verzi.
- Având în vedere faptul că, în literatura de specialitate, motivele pirazol și tiazol sunt cunoscute ca având un caracter terapeutic, în special capacitate citotoxică, al treilea capitol a vizat evaluarea potențialului de aplicare a acestor strategii de sinteză în obținerea de noi molecule cu proprietăți antitumorale.
- Al patrulea capitol este dedicat *Metodologiei experimentale* utilizate.

La finalul manuscrisului sunt prezentate *Concluziile generale*, cu evidențierea elementelor de originalitate și a direcțiilor viitoare de studiu.

[1] N.-C. Ostache, Ph.D. Dissertation, Université d'Orléans, **2019** http://www.theses.fr/2019ORLE3015.
[2] N.-C. Ostache, M.-A. Hiebel, A.-L. Fînaru, G. Guillaumet, F. Suzenet, *ChemCatChem* **2019**, *11*, 3530-3533.
[3] N.-C. Ostache, M.-A. Hiebel, A.-L. Fînaru, H. Allouchi, G. Guillaumet, F. Suzenet, *RSC Advances* **2021**, *11*, 9756-9765.

Capitolul I. STUDIU BIBLIOGRAFIC PRIVIND APLICAREA CONCEPTULUI DE CHIMIE VERDE ȘI METODELE DE EVALUARE A IMPACTULUI ASUPRA MEDIULUI ÎN PROCESUL DE SINTEZĂ AL MOLECULELOR BIOACTIVE

1.1. NOȚIUNI GENERALE – CONCEPTUL DE CHIMIE VERDE/CHIMIE DURABILĂ

În ultimele decenii, comunitatea specialiștilor din domeniul chimiei s-a mobilizat pentru a dezvolta noi strategii de sinteză care sunt mai puțin periculoase pentru sănătatea umană și pentru mediu. Această nouă abordare a primit o atenție considerabilă și deși poartă diverse denumiri, „chimie verde", „chimie durabilă", „chimie ecologică" sau „chimie benignă prin proiectare", scopul este același, de supraveghere a chimiei practicate la scară de laborator sau industrială, știind că de fiecare dată consecințele transformărilor chimice nu se opresc la proprietățile moleculei țintă sau la eficiența unui anumit reactiv.

Atât conceptul de chimie verde, cât și cel de dezvoltare durabilă, au fost în plină expansiune în anii 1990,[4] interesul manifestat în această direcție accentuâdu-se spre sfârșitul secolului 21. Pentru a evalua cât de ecologic este un anumit proces chimic, numeroși cercetători au subliniat faptul că, trebuie acordată o atenție deosebită în primul rând problemelor de siguranță, sănătate și protecție a mediului, datorită diversității caracteristicilor compușilor utilizați (substraturi și reactivi), auxiliarilor (în principal solvenți) precum și a deșeurilor ce rezultă.

Termenul de chimie verde este, de asemenea, definit ca: „Invenția, proiectarea și aplicarea unor substanțe chimice și procese pentru a reduce sau elimina utilizarea și generarea de substanțe periculoase".[5]

Adepții chimiei verzi se străduiesc să protejeze mediul promovând noi metode, mai prietenoase, care să minimizeze atât consumul de energie, cât și pe cel al resurselor naturale.[6] Susținătorii conceptului, care au definit modul în care producția chimică ar putea respecta atât sănătatea umană cât și mediul înconjurător păstrând în același timp eficiența și profitabilitatea, au fost chimiștii Anastas și Warner.

[4] J. H. Clark, *Green Chem.* **1999**, *1*, 1-8.
[5] P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Science Publications, Oxford, **1998**.
[6] M. Poliakoff, J. M. Fitzpatrick, T. R. Farren, P. T. Anastas, *Science* **2002**, *297*, 807-810.

Principalele axe privind dezvoltarea tehnologiilor ce au la bază chimie verde sunt rezumate în „Cele douăsprezece principii ale chimiei verzi”,[5, 7] descrise în cele ce urmează:

1. Prevenția: este mai bine să se limiteze producția de deșeuri decât să se investească în eliminarea acestora.

2. Economia de atomi: procesele chimice trebuie proiectate astfel încât să încorporeze numărul maxim de atomi al materiilor prime în molecula finală.

3. Sinteze chimice mai puțin nocive: metodele sintetice trebuie concepute pentru a crea și utiliza substanțe care nu sunt toxice pentru oameni și pentru mediul înconjurător.

4. Concepția de produși chimici mai siguri: substanțele chimice ar trebui să fie proiectate pentru a-și îndeplini acțiunea principală, minimizând în același timp toxicitatea lor.

5. Solvenți și compuși auxiliari mai siguri: compușii auxiliari trebuie eliminați dacă este posibil. În caz contrar, dacă sunt necesari pentru sinteză, ei trebuie să fie inofensivi.

6. Ameliorarea randamentului energetic: cantitatea de energie utilizată în timpul procesului trebuie redusă la minimum.

7. Utilizarea de materii prime regenerabile acolo unde este posibil.

8. Reducerea de compuși derivați: toate reacțiile inutile (de exemplu, protecție/deprotejare) ar trebui reduse la minimum, deoarece fiecare etapă necesită reactivi suplimentari și produce deșeuri.

9. Cataliză: folosirea catalizatorilor, mai performanți și selectivi, este preferată utilizării reactivilor în cantitate stoechiometrică (Premiul Nobel în Chimie, în 2021, a fost acordat Prof. Dr. Benjamin List și Prof. Dr. David William Cross Macmillan pentru Cataliza organică).

10. Conceperea de substanțe ușor de eliminat: substanțele chimice trebuie proiectate pentru a se transforma în produse de degradare inofensive după utilizare.

11. Analiza în timp real pentru prevenirea poluării: sunt necesare metode de analiză în timp real pentru prevnirea producerii de deșeuri.

12. Siguranța în chimie pentru prevenirea accidentelor: produsele utilizate într-un proces și forma acestora trebuie studiate pentru a limita incendiile, exploziile si toate accidentele chimice în general.

Această abordare a „chimiei verzi” a fost completată în 2003 de cele **12 principii ale „ingineriei verzi”**[8]:

1. Proiectantul trebuie să se asigure că toate materialele, sursele de energie și produsele folosite sunt intrinsec cel mai puțin periculoase posibil.

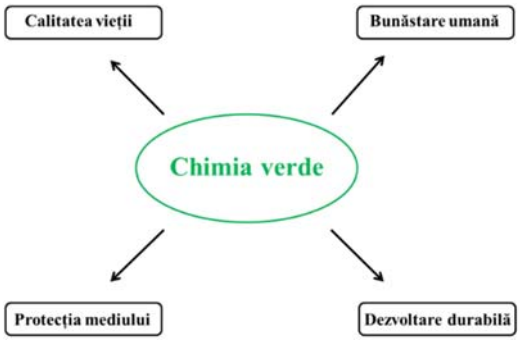
2. Este de preferat să se evite producerea de deșeuri la sursă decât să se colecteze și să se trateze deșeurile.

[7] P. Anastas, N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301-312.
[8] P. T. Anastas, J. B. Zimmerman, *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 94A-101A.

3. Operațiunile de separare și purificare trebuie concepute astfel încât să minimizeze consumul de energie precum și cantitățile de materiale utilizate.
4. Procesele trebuie concepute astfel încât să se maximizeze eficiența în ceea ce privește cantitățile de materiale utilizate, energie, spațiu și timp.
5. Procesele trebuie dimensionate în funcție de cantitățile de produs (debit de ieșire) și nu de cantitățile de intrare disponibile (debit de intrare), atât din punct de vedere energetic, cât și al materiilor prime, reactivi și auxiliari.
6. Alegerea reciclării, reutilizării sau valorificării ar trebui să fie determinată de gradul de complexitate și de investițiile necesare .
7. Durabilitatea și nu longevitatea ar trebui să fie principalul obiectiv în etapa de proiectare.
8. Când se proiectează un proces soluțiile de tip capacitate sau capabilitate generală (de exemplu conceptul „mărime universală") trebuie să fie considerate un defect de proiectare.
9. Diversitatea materialelor utilizate în conceperea produselor trebuie redusă pentru a favoriza eliminarea subproduselor și păstrarea valorii adăugate.
10. Proiectarea procesului trebuie să integreze și să interconecteze fluxurile de energie și cele de materiale disponibile.
11. Evaluarea ciclului de viață al unui produs trebuie să țină cont de soarta acestuia după utilizare (reciclare, reutilizare, biodegradabilitate etc.).
12. Materiile prime și tipurile de energie utilizate trebuie să fie mai degrabă din categoria celor regenerabile decât epuizabile (de exemplu, energie de origine fosilă).

Chimia verde și *Ingineria verde* oferă instrumente, procese și sisteme alternative care vor schimba nu numai durabilitatea producției de materiale chimice, ci și raportul lor cu mediul înconjurător.

Aplicarea simultană a tuturor acestor principii este foarte greu de implementat și rămâne o provocare pentru chimiști. Cu toate acestea, ei sunt cei care vor juca un rol cheie în realizarea condițiilor pentru dezvoltarea durabilă, chimia verde reprezentând o posibilă strategie câștigătoare (Schema 1).[9]



Schema 1. *Chimia verde și factorii ce definesc noile evoluții în chimia modernă*

[9] P. Tundo, P. Anastas, C. Black David St, J. Breen, J. Collins Terrence, S. Memoli, J. Miyamoto, M. Polyakoff, W. Tumas, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1207-1228.

1.2. ECONOMIA CIRCULARĂ ȘI CHIMIA VERDE

Un concept strâns legat de principiile discutate anterior este reprezentat de economia circulară și, în special, de modul în care chimiștii reușesc să contribuie la aceasta. Astfel, economia circulară constituie o oportunitate durabilă reală pentru sistemul economic și pentru mediul înconjurător actual, precum și o sursă de inovație pentru toți cercetătorii. Astfel, a fost definită o scară cu cinci niveluri de contribuție a chimiei la economia circulară[10,11]:

✓ Nivelul 1 – **O chimie mai ecologică** → chimie verde și sinteze/procese ecocompatibile pentru a limita impactul negativ al chimiei asupra mediului;

Aplicarea celor 12 principii ale chimiei verzi propuse de Anastas și Warner la sfârșitul anilor 1990, completate în 2003 de cele douăsprezece principii ale ingineriei verzi (Anastas și Zimmerman) poate constitui un prim nivel de contribuție al chimiei la o economie mai circulară.

✓ Nivelul 2 – **Simplificare generală** → simplificarea sintezelor și limitarea complexității produsului, eficiență optimizată a consumului de resurse;

Este esențial să se proiecteze produse noi acceptate de consumatori sau să se modifice metodele de obținere a acestora prin evitarea produselor multicomponente greu de separat (spre exemplu amestecurile de metale sau solvenți).

✓ Nivelul 3 – **Inovațiile chimice în prim plan** → inovații, noi tehnologii, noi metode de dezvoltare și noi concepte;

În conformitate cu economia circulară, inovațiile în sinteza moleculelor sunt strâns legate de progresele recente în cataliză, de noi instrumente de intensificare a proceselor, de dezvoltarea de aplicații în medii de reacție mai ecocompatibile (apă, lichide ionice, fluide supercritice etc.) sau în combinație cu metode de activare fizică (microunde, fotochimie, mecanochimie, sonochimie, plasmă etc.).

✓ Nivelul 4 – **Bilanț** → evaluări de mediu și economice mai sistematice și mai extinse, în special analize ale ciclului de viață la scară de laborator;

Stăpânirea fluxurilor și materialelor din punct de vedere cantitativ și calitativ (puritate, proprietăți fizico-chimice etc.) precum și analiza ciclului de viață (LCA) a produselor și a proceselor sunt recomandate și în procesele de proiectare, chiar la scară de laborator.

✓ Nivelul 5 → **Abordări locale și globale ce urmează să fie dezvoltate**: luarea în considerare a problemelor și a oportunităților cu o viziune locală și globală, combinată cu o abordare multi-parteneră și multidisciplinară.

Ca parte a economiei circulare, chimiștii sunt încurajați să se implice în proiecte multipartenere și multidisciplinare, asociate unui teritoriu cât mai extins, pentru a asigura o valorificare superioară a produselor bazată pe recuperare și reciclare, menținând în același timp trasabilitatea completă a produsului, ceea ce reduce impactul negativ asupra mediului înconjurător.

---

[10] G. Chatel, *L'Actualité Chimique* **2020**, *456-457-458*, 8-10.
[11] G. Chatel, *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 9665-9673.

1.3. SOLVENȚII ȘI IMPACTUL LOR ASUPRA MEDIULUI

Solvenții durabili atrag un interes din ce în ce mai mare atât în comunitatea cercetatorilor, cât și în industria chimică, datorită conștientizării tot mai mari a impactului acestora asupra mediului, respectiv a schimbărilor climatice. Pierderile de solvenți reprezintă o parte semnificativă a poluării organice, iar îndepărtarea lor din sistem presupune un consum considerabil de energie pentru un proces chimic.

În 2015, ONU a prezentat un nou plan de dezvoltare axat pe durabilitate denumit „Transformarea lumii noastre: Agenda 2030 pentru Dezvoltare Durabilă". Planul cuprinde 17 Obiective de Dezvoltare Durabilă (ODD) care abordează o gamă largă de probleme, dintre care se remarcă necesitatea promovării unei chimii și inginerii ecologice și durabile.[12]

De asemenea, la nivel european, au fost formulate o serie de inițiative cu scopul de a explora impactul, oportunitățile și riscurile diferitelor scenarii de dezvoltare energetică și tehnologică pentru industria chimică în perioada 2020-2050.[13]

1.4. METODE DE EVALUARE ALE CHIMIEI VERZI

Conform literaturii de specialitate, îmbunătățirile ce privesc sustenabilitatea tuturor proceselor de producție ar trebui măsurate cantitativ pentru a justifica investiția necesară. Dacă nu este posibilă măsurarea durabilității unui proces, nu este posibilă nici compararea acestuia și nici definirea obiectivelor de optimizare si modernizare.[14] Cele mai vechi două metode de evaluare a chimiei verzi sunt economia de atomi[15] și factorul E,[16, 17] propuse pentru prima dată în 1991, respectiv 1992.

Economia de atomi (**EA**) se calculează prin împărțirea masei moleculare a produsului țintă la suma totală a maselor moleculare ale tuturor substanțelor ce formează ecuația stoechiometrică a reacției în cauză. EA este un număr teoretic, bazat pe utilizarea cantităților stoechiometrice exacte de materie primă și pe un randament de 100%. Substanțele care nu apar în ecuația stoechiometrică (solvenți și substanțe chimice auxiliare utilizate în recuperarea produsului) nu sunt luate în considerare. Cu toate acestea, EA este o metodă de evaluare extrem de utilă pentru estimarea inițială, înainte de efectuarea experimentelor, care ia în considerare utilizarea resurselor și generarea asociată de deșeuri.

Factorul E (al doilea principiu al chimiei verzi), reprezintă, pe de altă parte, cantitatea reală de deșeuri produsă în proces. În versiunea originală,[16] deșeurile erau definite ca „totul în

[12] E. Cséfalvay, G. R. Akien, L. Qi, I. T. Horváth, *Catal. Today* **2015**, *239*, 50-55.
[13] M. Beller, G. Centi, L. Sun, *ChemSusChem* **2017**, *10*, 6-13.
[14] R. A. Sheldon, J. M. Woodley, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 801-838.
[15] B. Trost, *Science* **1991**, *254*, 1471-1477.
[16] R. A. Sheldon, *Chem. Ind.* **1992**, 903-906.
[17] R. A. Sheldon, *Green Chem.* **2017**, *19*, 18-43.

afară de produs", cu excepția apei. Apa a fost exclusă pentru că luarea ei în considerare ar putea duce la o asimetrie a factorilor E, ceea ce face compararea proceselor semnificativ mai dificilă.

O valoare a factorului E ridicată înseamnă mai multe deșeuri și, prin urmare, un impact negativ asupra mediului. Factorul E ideal este zero.

Diverse alternative semi-cantitative (**EATOS** - Instrument de Evaluare a Mediului pentru Sinteza Organică[18] sau **EcoScale**[19]) și cantitative (Eficiența Masică a Reacției după Curzons (**$EMR_{Curzons}$**), Factorul stoechiometric (**FS**), Eficiența Masică Globală a Reacției (**gEMR**), Intensitatea Masei Procesului (**IMP**) etc.) au fost de asemenea propuse[20] pentru a măsura amprenta proceselor asupra mediului în cazul chimiei verzi.[21,22,23,24,25]

Analiza ciclului de viață (ACV)[26, 27] este un alt mijloc care a fost special conceput pentru a evalua impactul asupra mediului al unui produs, în toate etapele „de viață", de la extracția materiilor prime și prelucrarea materialelor până la distribuție, utilizare și eliminare sau reciclare. ACV se realizează pe baza unor indicatori de mediu cuantificabili, precum consumul de energie, încălzirea globală, epuizarea stratului de ozon, acidificarea, eutrofizarea, formarea smogului și ecotoxicitatea, pe lângă deșeurile generate. Integrarea metodelor de evaluare a chimiei verzi bazate pe masă cu metode ACV pentru evaluarea cantitativă a impactului proceselor asupra mediului a fost descrisă de mai multe ori în literatura de specialitate.[28]

Unele companii și-au dezvoltat propriile metodologii ACV. Spre exemplu, GSK a dezvoltat **FLASC** (Analiza Rapida a Ciclui de Viață pentru Chimia de Sinteză)[29] pentru a evalua rutele sintetice către produși farmaceutici activi (PFA) și a descris recent, evoluția analizelor ciclului de viață în aplicații chimice și farmaceutice.[30] La rândul său, BASF a dezvoltat **Analiza Eco-eficienței**,[31] iar L'Oréal a introdus **Amprenta Ecologică**,[32] care include amprenta de producție și amprenta de proiectare ecologică.

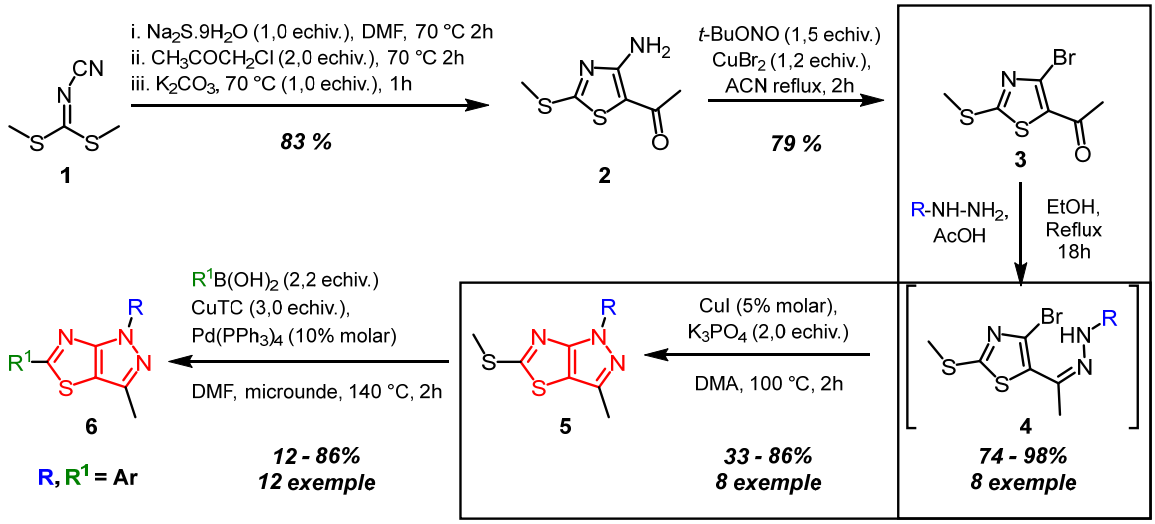
---

[18] M. Eissen, J. O. Metzger, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 3580-3585.
[19] K. Van Aken, L. Strekowski, L. Patiny, *Beilstein J. Org. Chem.* **2006**, *2*, 1-7.
[20] A. Lapkin, D. Constable, Eds., *Green Chemistry Metrics: Measuring and Monitoring Sustainable Processes*, Wiley-Blackwell: Chichester, U.K., **2008**.
[21] J. Andraos, *The Algebra of Organic Synthesis: Green Metrics, Design Strategy, Route Selection and Optimization*, CRC Press/Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, **2012**.
[22] A. D. Curzons, D. J. C. Constable, D. N. Mortimer, V. L. Cunningham, *Green Chem.* **2001**, *3*, 1-6.
[23] D. J. C. Constable, A. D. Curzons, V. L. Cunningham, *Green Chem.* **2002**, *4*, 521-527.
[24] C. Jimenez-Gonzalez, C. S. Ponder, Q. B. Broxterman, J. B. Manley, *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 912-917.
[25] C. Jiménez-González, C. Ollech, W. Pyrz, D. Hughes, Q. B. Broxterman, N. Bhathela, *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *17*, 239-246.
[26] M. A. Curran, *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2013**, *2*, 273-277.
[27] W. E. Klöpffer, *Background and Future Prospects in Life Cycle Assessment*, Springer, Dordrecht, Pays-Bas, **2014**.
[28] L. M. Gilbertson, J. B. Zimmerman, D. L. Plata, J. E. Hutchison, P. T. Anastas, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 5758-5777.
[29] A. D. Curzons, C. Jiménez-González, A. L. Duncan, D. J. C. Constable, V. L. Cunningham, *Int. J. Life Cycle Assessment* **2007**, *12*, 272.
[30] C. Jiménez-González, M. R. Overcash, *Green Chem.* **2014**, *16*, 3392-3400.
[31] P. Saling, R. Maisch, M. Silvani, N. König, *Int. J. Life Cycle Assessment* **2005**, *10*, 364-371.
[32] L. Leseurre, C. Merea, S. Duprat de Paule, A. Pinchart, *Green Chem.* **2014**, *16*, 1139-1148.

Capitolul II. EVALUAREA ECO-COMPATIBILĂ A METODOLOGIEI DE SINTEZĂ A PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR ȘI A PIRAZOLO[3,4-*c*]PIRAZOLILOR

2.1. ANALIZA INDICATORILOR VERZI PENTRU ETAPELE CHEIE ÎN SINTEZA PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR

Elaborată în 2006 de către Van Aken *et al*.,[19] EcoScale este un instrument semi-cantitativ pentru a evalua calitatea preparării chimiei organice la scara de laborator. Această abordare se concentrează pe mai mulți parametri care caracterizează sinteza organică, cum ar fi randamentul, costul, siguranța, condițiile și ușurința preparării/purificării. Cel mai înalt rang în EcoScale (100 de puncte) se referă la o reacție „ideală" care are un randament de 100%, utilizează reactivi ieftini, este efectuată la temperatura camerei și este sigură pentru operatori și mediu. Valoarea obținută conform EcoScale face posibilă selectarea diferitelor produse nu numai în funcție de impactul lor asupra mediului, ci și în funcție de costurile acestora. Rezumatul sancțiunilor procedurale este prezentat în Capitolul 4 (Metodologie experimentală – Tabelele 41 și 42).



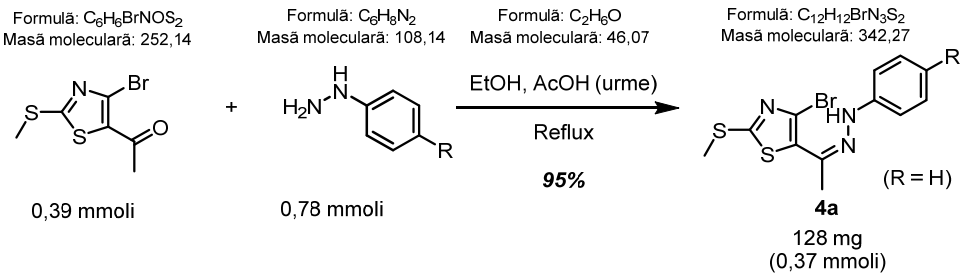
Schema 2. *Sinteza pirazolo[3,4-d]tiazolilor*

Pentru a putea compara două protocoale diferite ale etapelor noastre cheie în sinteza biciclilor de tip pirazolo[3,4-*d*]tiazol (Schema 2) și a vedea care dintre cele două respectă cel mai mult mediul, a fost aplicată analiza semi-cantitativă EcoScale și, în afară de randament, s-au calculat de asemenea câțiva indicatori de masă ai chimiei verzi (Capitolul 4 – Metodologia experimentală, Tabelul 43): economia de atomi (EA), eficiența masică a reacției după Curzons ($EMR_{Curzons}$), factorul stoechiometric (FS) și eficiența masică globală a reacției (gEMR).

2.1.1. Etapa de condensare pentru formarea hidrazonelor 4a-h – evaluarea indicatorilor ecologici

2.1.1.2. Optimizarea etapei de condensare cu fenilhidrazină

Pe baza acestor rezultate încurajatoare privind ecocompatibilitatea etapei de condensare cu fenilhidrazina, ne-am îndreptat atenția către **condițiile optime** pentru această transformare (Schema 4) și analiza EcoScale a acestora (Tabelul 9).



Schema 4. *Condiții optimizate pentru sinteza fenilhidrazonei* ***4a***

Tabelul 9. *Puncte de penalitate (EcoScale)* pentru condițiile optimizate ale etapei de condensare (condiții non-stoechiometrice)*

Parametri	Puncte de penalitate
Randament	**(100 – 95)/2 = 2,5**
Montaj tehnic	
Montaj clasic	0
Atmosferă (inertă) gazoasă	**1**
Temperatură/Timp	
Încălzire > 1 h	**3**
Tratament/Purificare	
Evaporare de solvent cu punct de fierbere < 150 °C	0
Cromatografie lichidă clasică	**10**
Totalul punctelor de penalitate	**16,5**

*Reactivii, solvenții, materialele auxiliare și pictogramele de securitate au fost excluse

Cu un scor EcoScale de 83,5% (100-16,5 puncte de penalizare), reacția poate fi considerată excelentă din punct de vedere al impactului redus asupra mediului.

Parametrii de masă corespunzători sunt prezentați în tabelul de mai jos (Tabelul 10).

Tabelul 10. *Parametri de masă pentru condițiile optimizate ale etapei de condensare*

Parametri	***Ecuație și Valori***
1. Randament (**η**)	(0,00037/0,00039) x 100 = **95%**
	Un rezultat excelent – numai 5% de deșeuri au rezultat din această transformare.
2. Economia de atomi (**EA**)	[342 / (252 + 2 x 108)] x 100 = **73%**
	27% din masa de atomi a reactivilor utilizați vor constitui deșeuri.
3. Eficiența masică a reacției după Curzons (**$EMR_{Curzons}$**)	[(0,128 / (0,100 + 0,084)] x 100 = **69%**
	31% din masa reactivilor utilizați în reacție nu sunt incluși în produs (hidrazona) și sunt considerați deșeuri.
4. Factorul stoechiometric (**FS**)	1 + [(0,100 + 0,084) – (0,100 + 0,042)] / (0,100 + 0,042)] = **1.29**
	Valoarea de 1,29 indică faptul că 29% din masa reactivilor sunt folosiți în exces.
5. Eficiența masică globală a reacției (**gEMR**)	0,128 / (0,100 + 0,084 + 0,789) = **0,13 (13%)**
	Aceasta semnifică faptul că 87% din cantitatea substanțelor implicate în reacție nu este încorporată în produșii finali și deci constituie deșeuri dacă nu este reciclată.

Pe baza acestor rezultate, s-au putut compara punctele de penalizare pentru formarea hidrazonei **4a** (Tabelul 11).

Tabelul 11. *Puncte de penalitate și valori EcoScale* pentru sinteza hidrazonei* ***4a***

Parametri	Puncte de penalitate pentru	
	Testul inițial**	Condiții optimale***
Randament (nr. echiv. variază)	29,0 (42%)	2,5 (**95%**)
Montaj tehnic	1	1
Temperatură / Timp	3	3
Tratament / Purificare	10	10
Scor EcoScale global (fără securitate)	57	83,5

*Reactivii, solvenții, materialele auxiliare și pictogramele de securitate au fost excluse
** 1,0 echivalent de hidrazină;
*** 2,0 echivalenți de hidrazină.

În pofida aplicării aceluiași mod de lucru, randamentul este cel care determină faptul că odată condițiile optimizate identificate (dublarea numărului de echivalenți de hidrazină), acestea sunt asociate cu o transformare catalogată drept excelentă (valoare EcoScale mai mare de 75%).

Parametrii de bilanț de masă corespunzători sintezei optimizate în reacția cu fenilhidrazona sunt superiori celor ai studiului inițial, cu o singură excepție: EA. Aceste rezultate se datorează utilizării în exces a fenilhidrazinei (Tabelul 12).

Tabelul 12. *Parametri verzi asociați protocoalelor utilizate pentru sinteza hidrazonei* ***4a***

	Randament(%)	**EA (%)**	**$EMR_{Curzons}$ (%)**	**FS**	**gEMR(%)**
Testul inițial	42	95	40	1	6
Condiții optimizate	95	73	69	1,29	13

2.1.1.3. Generalizarea pentru alte hidrazine

După cum se poate observa în Tabelul 13, evaluarea tuturor rezultatelor obținute pentru această etapă (etapă care se referă la sinteza diferitelor hidrazone monosubstituite (**4a-4h**)), indică un compromis bun între chimia verde și eficiența metodei de sinteză optimizată.

Tabelul 13. *Parametri asociați protocolului optimizat folosit pentru sinteza hidrazonelor* ***4a-4e***

Produs/ Parametru	**4a** R = H	**4b** R = 4-NO_2	**4c** R = 4-CH_3	**4d** R = 4-CH_3O	**4e** R = 4-F	**4f** R = 3-F	**4g** R = 2-F	**4h** R = 4-CF_3
ɳ (%)	95	93	74	85	98	98	98	88
Puncte de penalitate	16,5	17,5	27	21,5	15	15	15	20
Scor EcoScale	**83,5 (E)***	**82,5 (E)***	**73,0 (A)****	**78,5 (E)***	**85 (E)***	**85 (E)***	**85 (E)***	**80 (E)***
EA (%)	73	69	63	62	62	62	62	68
EMR_C (%)	69	65	46	53	61	60	62	60
FS	1,29	1,37	1,39	1,41	1,39	1,39	1,39	1,41
gEMR (%)	13	14	10	12	13	13	14	14

Scor EcoScale = (100-Puncte de penalitate) : *superior față de 75% = procedeu excelent (E);
între 75 și 50 % = procedeu adecvat (A); * sub 50% = procedeu inadecvat (I).

Pentru șapte **(4a-b** și **4d-h)** din cei opt compuși sintetizați scorul cumulat prin analiza EcoScale este atribuit unui procedeu excelent (superior față de 75%) și, numai pentru compusul **4c**, scorul de 73% corespunde unei transformări considerate acceptabile.

2.1.2. Etapa de ciclizare a hidrazonei 4a pentru formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului 5a – evaluarea indicatorilor verzi

După ce a fost analizată formarea hidrazonei, ne-am concentrat pe următorul pas, și anume **ciclizarea intramoleculară**. Pentru a face acest lucru, cele două metode de ciclizare –

cuplarea Buchwald-Hartwig (Figura 5) și condensarea Ullmann (Figura 6) – au fost studiate cu ajutorul analizei EcoScale (Tabelele 14 și 15 și Tabelul 16 și 17).

În urma comparării celor două metode de ciclizare intramoleculară, Tabelul 18 arată fără echivoc faptul că reacția de condensare Ullmann este net superioară reacției de cuplare Buchwald în scopul obținerii biciclilor heterociclici de tip pirazolo[3,4-*d*]tiazoli.

Tabelul 18. *Scor EcoScale* global pentru obținerea pirazolo[3,4-d]tiazolului* ***5a*** *plecând de la hidrazona* ***4a***

Parametri	Puncte de penalitate pentru ciclizare folosind	
	Cuplarea Buchwald-Hartwig	Condensarea Ullmann
Randament	21,5 (57%)	5,5 (89%)
Montaj tehnic	0	1
Temperatură / Timp	3	3
Tratament / Purificare	10	12
Scor EcoScale global (fără securitate)	65,5	78,5

* Reactivii, solvenții, materialele auxiliare și pictogramele de securitate au fost excluse

Parametrii bilanțului de masă nu fac excepție (Tabelul 19). Cu diferențe foarte mici, condensarea Ullmann este modalitatea mai ecologică pentru a ajunge la compușii doriți.

Tabelul 19. *Parametri asociați protocoalelor operatorii pentru prepararea pirazolo[3,4-d]tiazolului* ***5a*** *plecând de la hidrazona* ***4a***

	Randament (%)	**EA (%)**	**$EMR_{Curzons}$ (%)**	**FS**	**gEMR (%)**
via Buchwald-Hartwig	57	30	17	1,57	2
via Ullmann	89	34	30	1,38	3

O valoare cu puțin mai interesantă în ceea ce privește factorul stoichiometric se observă atunci când se utilizează cuplarea Buchwald-Hartwig. Indiferent dacă este comparat randamentul, EA, $EMR_{Curzons}$ sau gEMR, procesul utilizat pentru prepararea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor plecând de la hidrazone prin metodologia lui Ullmann se dovedește a fi semnificativ mai ecologic.

2.1.3. Generalizarea reacției de condensare Ullmann cu alte hidrazone pentru obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor 5a-h

În această transformare, după ce au fost prezentate avantajele reacției de ciclizare prin condensarea Ullmann, o panoplie de hidrazone aromatice monosubstituite au fost utilizate.

Rezumatul parametrilor asociați cu protocolul optimizat pentru condensarea Ullmann este prezentat în Tabelul 20.

Tabelul 20. *Parametri asociați protocolului optimizat folosit pentru sinteza pirazolo[3,4-d]tiazolilor* ***5a-h*** *via reacția de condensare Ullmann*

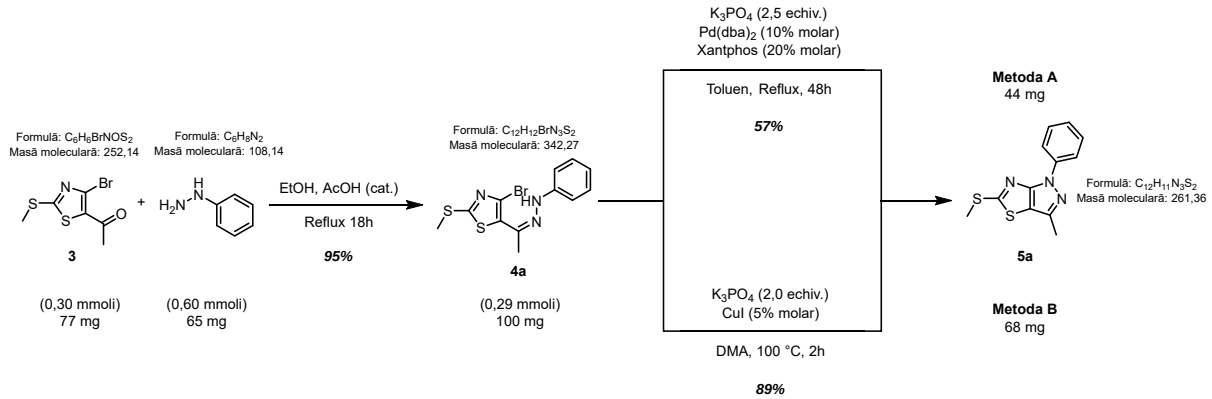
Produs/ Parametru	**5a** R = H	**5b** R = 4-NO_2	**5c** R = 4-CH_3	**5d** R = 4-CH_3O	**5e** R = 4-F	**5f** R = 3-F	**5g** R = 2-F	**5h** R = 4-CF_3
ɳ (%)	89	33	55	67	78	78	86	60
Puncte de penalitate	21,5	49,5	38,5	32,5	27	27	23	36
Scor EcoScale	**78,5 (E)***	**50,5 (A)****	**61,5(A)****	**67,5 (A)****	**73 (A)****	**73 (A)****	**77 (E)***	**64 (A)****
EA (%)	34	37	35	36	35	35	35	39
EMR_C (%)	27	12	19	25	28	28	31	23
FS	1,38	1,35	1,37	1,36	1,37	1,37	1,37	1,34
gEMR (%)	2,7	1,2	1,9	2,4	2,7	2,7	3,0	2,3

Scor EcoScale = (100-Puncte de penalitate) : *superior față de 75% = procedeu excelent (E); **între 75 și 50 % = procedeu adecvat (A); *** sub 50% = procedeu inadecvat (I).

Se poate remarca faptul că pentru șase (**5b-f** și **5h**) din cei opt pirazolo[3,4-*d*]tiazoli sintetizați, scorul cumulat prin analiza EcoScale este caracteristic unui proces adecvat (între 50% și 75%) și, doar pentru compușii **5a** și **5g**, scorurile corespund unui procedeu considerat excelent.

2.1.4. Evaluarea indicatorilor verzi pentru cele două etape folosite la obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului 5a plecând de la tiazolul 3

Analiza noastră ecocompatibilă s-a orientat apoi către **formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor în două etape,** pornind de la tiazolul **3** și comparând cele două metode diferite de ciclizare (Figura 8).



Schema 8. *Sinteza pirazolo[3,4-d]thiazolului* ***5a*** *în 2 etape, plecând de la tiazolul* ***3*** *(Buchwald-Hartwig vs. Ullmann)*

Pentru a evalua cele două căi de sinteză implementate pentru formarea pyrazolo[3,4-*d*]tiazoli (în două etape, plecând de la tiazoli funcționalizați), datele obținute sunt redate comparativ în tabelul de mai jos (Tabelul 25).

Tabelul 25. *Puncte de penalitate și scor global EcoScale* pentru prepararea pirazolo[3,4-d]tiazolului* ***5a*** *în două etape plecând de la tiazolului* ***3***

Parametri	Puncte de penalitate pentru sinteza biciclului **5a**	
	Cuplare Buchwald-Hartwig	Condensare Ullmann
Randament	23 (54%)	8 (84%)
Montajul tehnic	0	2
Temperatură / Timp	6	6
Tratament / Purificare	20	22
Scor EcoScale global (fără securitate)	51	62

*Reactivii, solvenții, materialele auxiliare și pictogramele de securitate au fost excluse

Indiferent de modalitatea de ciclizare aleasă, pentru formarea pirazolo-tiazolilor, scorurile generale EcoScale plasează această sinteză în domeniul unui proces acceptabil. Trebuie remarcat totuși, că în pofida unei purificări mai laborioase în cazul în care se folosește reacția de condensare Ullmann pentru a forma moleculele țintă, rezultatele analizei EcoScale o favorizează față de reacția de cuplare Buchwald-Hartwig (**62** *vs*. **51**).

Parametrii bilanțului de masă, reuniți în Tabelul 26, întăresc ideea enunțată mai sus, cu valori mai ecocompatibile în cazul în care se alege reacția de condensare Ullmann pentru prepararea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor.

Tabelul 26. *Parametri asociați protocoalelor luate în considerare pentru prepararea pirazolo[3,4-d]tiazolului* ***5a*** *în două etape plecând de la compusul* ***3***

	Rdt (%)	**EA (%)**	**$EMR_{Curzons}$ (%)**	**FS**	**gEMR (%)**
Obținerea hidrazonei	95	73	69	1,29	13
Buchwald-Hartwig	57	26	17	1,57	2
Global	**54**	**45**	**14**	**1,75**	**1,5**
Obținerea hidrazonei	95	73	69	1,29	13
Condensarea Ullmann	89	29	30	1,38	3
Global	**84**	**45**	**25**	**1,54**	**2,3**

Valorile globale ale parametrilor sunt calculate luând în considerare cele două etape de reacție: formarea hidrazonei și ciclizarea (folosind una dintre cele două strategii: cuplarea Buchwald-Hartwig și condensarea Ullmann).

2.1.5. Formarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolului 5a într-o manieră „one-pot" prin reacția de condensare Ullmann

Ultimul obiectiv de analizat se referă la sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor într-o manieră „one-pot" (Schema 9). Este această secvență mai ecocompatibilă decât cea implementată pentru obținerea acestor bicicluri conform metodei de sinteză secvenţiale? Analiza EcoScale este prezentată în Tabelele 27 și 28 *vs*. Tabelele 23 și 24.

Odată efectuată, comparația este mai bine ilustrată în Tabelul 29 deoarece, independent de parametrul ales, putem observa clar faptul că sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** prin strategia „one-pot" este superioară față de cea implementată în procesul inițial secvenţial.

Tabelul 29. *Comparație între punctele de penalitate și scoruri EcoScale* globale pentru prepararea pirazolo[3,4-d]tiazolului* ***5a*** *pornind de la tiazolul* ***3*** *prin condensarea Ullmann*

Parametri	Penalități pentru sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolului **5a** în manieră	
	Secvențială	„one-pot"
Randament	8,0 (84%)	5,5 (89%)
Montaj tehnic	2	1
Temperatură / Timp	6	3
Tratament / Purificare	22	12
Scor EcoScale global (fără securitate)	62	78,5

*Reactivii, solvenții, materialele auxiliare și pictogramele de securitate au fost excluse

Pentru strategia secvenţială, scorul de 62% corespunde unui procedeu considerat acceptabil, în timp ce pentru metoda „one-pot", scorul cumulat prin analiza EcoScale (78,5%) este caracteristic unui proces excelent (peste 75%)

În mod similar, parametrii asociați bilanțului de masă, regrupați în Tabelul 30 susțin această afirmație. În ciuda valorilor comparabile (EA, FS) obținute pentru cele două modalități de sinteză ale heterociclilor studiați, procesul „one-pot" este cel care, urmând condițiile noastre optimizate anterior, conduce la un randament mai mare.

Tabelul 30. *Parametri de bilanț de masă asociați protocolului pus în aplicare pentru prepararea pirazolo[3,4-d]tiazolului* ***5a*** *plecând de la compusul* ***3****: secvențial vs. „one-pot"*

	Rdt (%)	**EA (%)**	**$EMR_{Curzons}$ (%)**	**FS**	**gEMR (%)**
Procedeu secvențial	84	29	25	1,54	2,3
Procedeu „one-pot"	**89**	29	26	1,54	2,4

2.1.6. Generalizarea reacției „one-pot" pentru obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor 5b-h prin reacția de condensare Ullmann

Pentru a arăta eficiența strategiei „one-pot" prin intermediul condensării lui Ullmann, obținerea acelorași sisteme de pirazolo[3,4-*d*]tiazoli (**5b-h**) a fost testată folosind această metodă.

Protocolul „one-pot" implementat a condus, de asemenea, la obținerea de pirazolo[3,4-*d*]tiazoli **5b-h** cu randamente mai bune în comparație cu procedeul secvențial.

Rezumatul valorilor parametrilor verzi asociați cu protocolul optimizat pentru producția „one-pot" de pirazolo[3,4-*d*]tiazoli **5b-h** prin condensarea Ullmann este prezentat în Tabelul 31.

Tabelul 31. *Parametri asociați protocolului optimizat folosit pentru sinteza „one-pot" a pirazolo[3,4-d]tiazolilor* ***5a-h*** *via reacția de condensare Ullmann*

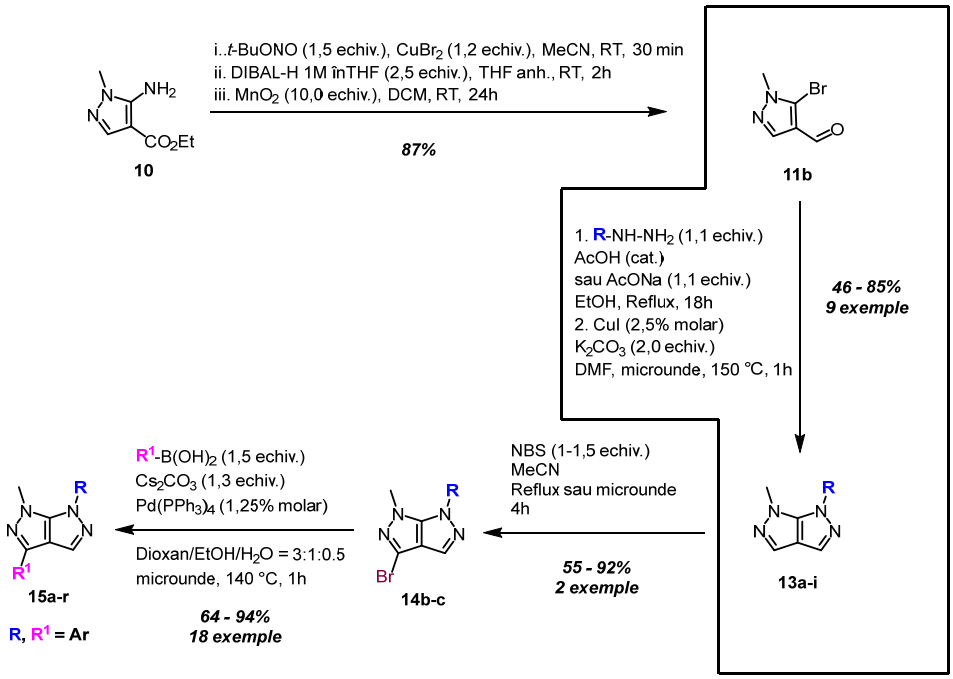
Produs/ Parametru	**5b** R = 4-NO_2-C_6H_4	**5c** R = 4-CH_3-C_6H_4	**5d** R = 4-CH_3O-C_6H_4	**5e** R = 4-F-C_6H_4	**5f** R = 3-F-C_6H_4	**5g** R = 2-F-C_6H_4	**5h** R = 4-CF_3-C_6H_4
η (%)	14	98	97	83	90	86	83
Puncte de penalitate	59	17	17,5	24,5	21	23	24,5
Scor EcoScale	**41 (I)*** **	**83 (E)***	**82,5 (E)***	**75,5 (E)***	**79 (E)***	**77 (E)***	**75,5 (E)***

Scor EcoScale = (100-Puncte de penalitate) : *superior față de 75% = procedeu excelent (E); **între 75 și 50 % = procedeu adecvat (A); *** sub 50% = procedeu inadecvat (I).

Se poate observa faptul că pentru șase (**5c-h**) din cei șapte pirazolo[3,4-*d*]tiazoli sintetizați, scorul cumulat prin analiza EcoScale este caracteristic unui proces excelent (mai mare de 75%) și, numai pentru compusul **5b**, scorul corespunde unei transformări considerate inadecvate (sub 50%).

2.2. ANALIZA INDICATORILOR VERZI PENTRU ETAPELE CHEIE ÎN SINTEZA PIRAZOLO[3,4-*c*]PIRAZOLILOR

Folosind analiza EcoScale și parametrii de masă ai chimiei verzi (EA, $EMR_{Curzons}$, FS și gEMR, Capitolul 4 – Metodologia experimentală, Tabelul 43), aceeași metodologie a fost aplicată și pentru evaluarea caracterului ecocompatibil al etapelor cheie identificate în procesul de sinteză al nucleului de tip pirazolo[3,4-*c*]pirazol (Schema 11).



Schema 11. *Sinteza pirazolo[3,4-c]pirazolilor*

2.2.1. Etapa „one-pot" de condensare și ciclizare – evaluarea indicatorilor verzi

2.2.1.3. Generalizarea pentru alte hidrazone

După cum se poate observa în Tabelul 37, evaluarea tuturor rezultatelor obținute pentru această etapă, etapă care se referă la sinteza diverșilor pirazolo[3,4-*c*]pirazoli (**13a-i**) monosubstituiți, indică un compromis bun între chimia verde și eficiența metodei de sinteză optimizată.

Tabelul 37. *Parametri asociați protocolului optimizat folosit pentru sinteza pirazolo[3,4-c]pirazolilor* ***13a-i***

Produs (R)/ Parametru	**13a** (H)	**13b** (4-CH_3)	**13c** (4-CH_3O)	**13d** (CN)	**13e** (4-CF_3)	**13f** (4-F)	**13g** (3-F)	**13h** (2-F)	**13i** (4-Py)
η (%)	76	64	46	76	54	62	85	46	46
Puncte de penalitate	33	39	48	33	44	40	28,5	48	48
Score EcoScale	**67 (A)****	**61 (A)****	**52 (A)****	**67 (A)****	**56 (A)****	**60 (A)****	**71,5 (A)****	**52 (A)****	**52 (A)****
EA (%)	45	37	39	39	53	38	38	38	46
EMR_C (%)	26	19	14	23	22	18	25	14	16
FS	1,34	1,28	1,28	1,28	1,30	1,28	1,28	1,28	1,34
gEMR (%)	2	2	1	2	2	1	2	1	1

Scor EcoScale = (100-Puncte de penalitate) : *superior față de 75% = procedeu excelent (E); **între 75 și 50 % = procedeu adecvat (A); *** sub 50% = procedeu inadecvat (I).

Pentru cei nouă compuși sintetizați, scorul cumulat prin analiza EcoScale este caracteristic unui proces „one-pot” acceptabil (mai mare de 50%), rezultat confirmat și de parametrii asociați bilanțului de masă .

Chiar dacă ponderea sancțiunilor propuse în analiza EcoScale are un caracter subiectiv, lucrările lui Van Aken *et al*. au oferit un instrument de evaluare rapid și versatil, printre avantajele metodei remarcându-se: ușurința calculării scorului și comparării diferitelor rute sintetice precum și includerea diverselor aspecte ale impactului asupra mediului în evaluarea transformării chimice.[33]

2.3. SOLVENȚII UTILIZAȚI PENTRU OBȚINEREA PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR ȘI A PIRAZOLO[3,4-*d*]PIRAZOLILOR

În procesul de sinteză și respectiv pentru purificarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor și a pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor, conform criteriilor ghidului CHEM21, s-au utilizat atât solvenți recomandați (etanol, acetat de etil), cât și problematici (metanol) sau periculoși (eter de petrol, DCM, DMF, DMA). Conform studiilor din literatura de specialitate, posibilități de înlocuire pot fi găsite în special pentru solvenții aprotici dipolari.[34] Astfel, Aubrey *et al.* au analizat, pe baza clasificării CMR și a toxicității, un grup de 220 de solvenți, selectând un număr de 40 pe care îi consideră a fi solvenți „verzi”.[35] Ulterior, autorii au demonstrat, folosind parametrii de solubilitate ai lui Hansen (δ_d, δ_p, δ_h)[36] , că solvenții prezintă o bună capacitate de dispersie în spațiul chimic.[35] Pe baza acestor criterii, candidați promițători pentru înlocuirea DMF și DMA pot fi GVL și NBP.[37] O altă soluție, propusă de metodologia pusă în aplicare de Inomata *et al*., presupune folosirea unui sistem de amestecuri de solvenți: un solvent donor de legături de hidrogen (DLH) și un altul capabil să accepte o legătură de hidrogen (ALH).[38]

De asemenea, se profilează soluții pentru partea de separare prin cromatografie atunci când se utilizează amestecul tradițional DCM/MeOH: înlocuire fie cu sistemul binar MeOH/CPME, fie cu AcOEt/Heptan, fie prin utilizarea unui amestec ternar AcOEt/EtOH/Heptan.

Deși aceste opțiuni există, ele necesită studii suplimentare dacă urmează să fie aplicate pentru sinteza heterobiciclilor noștri.

---

[33] M. Tobiszewski, M. Marć, A. Gałuszka, J. Namieśnik, *Molecules* **2015**, *20*, 10928-10946.
[34] J. D. Moseley, P. M. Murray, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2014**, *89*, 623-632.
[35] A. Benazzouz, L. Moity, C. Pierlot, M. Sergent, V. Molinier, J.-M. Aubry, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, *52*, 16585-16597.
[36] C. M. Hansen, *J. Paint Technol.* **1967**, *39*, 104-117.
[37] A. Jordan, C. G. J. Hall, L. R. Thorp, H. F. Sneddon, *Chem. Rev.* **2022**, *122*, 6749-6794.
[38] A. Duereh, Y. Sato, R. L. Smith, H. Inomata, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 114-124.

Concluzii

Pe parcursul acestui capitol au fost discutate noțiuni de chimie verde în contextul chimiei de sinteză. Apoi au fost prezentate și câteva metode de analiză a sustenabilității strategiilor adoptate. Dintre acestea din urmă, datorită avantajelor sale, analiza EcoScale a fost aleasă pentru a evalua etapele cheie în sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor și a pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor din punctul de vedere al impactului asupra mediului. De asemenea, pe lângă randament au fost calculați și alți parametri reprezentativi, asociați bilanțului de masă (EA, $EMR_{Curzons,}$ FS și gEMR).

Comparațiile multiple, în special în ceea ce privește etapele de condensare și ciclizare intramoleculară, precum și cele referitoare la importanța utilizării procesului „one-pot", au evidențiat faptul că, optimizarea condițiilor de reacție pentru strategia originală adoptată au condus la rezultate mai bune din punct de vedere chimic, concomitent cu limitarea daunelor asupra mediului.

În ceea ce privește influența solvenților utilizați pentru sinteză și purificare, conform recomandărilor și criteriilor ghidului CHEM21, va fi necesar un studiu mai aprofundat pentru identificarea unor alternative mai prietenoase cu mediu.

În ansamblu, în comparație cu sinteza bipirazolilor, strategia aplicată pentru obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor s-a dovedit a fi mai productivă și mai eco-responsabilă.

Capitolul III. EVALUAREA TOXICITĂȚII PIRAZOLO[3,4-*d*]TIAZOLILOR ȘI A PIRAZOLO[3,4-*c*]PIRAZOLILOR

3.3. EVALUAREA ACTIVITĂȚII BIOLOGICE A NOILOR SISTEME BISHETEROCICLICE AZOTATE SINTETIZATE

Existând puține date în literatură privitoare la potențialul terapeutic al acestor molecule condensate poliazotate, în prima parte a studiului nostru a fost evaluată lipofilicitatea celor 52 de compuși sintetizați, întrucât acest parametru este legat în mod esențial de proprietățile ADME (absorbție, distribuție, metabolism, excreție). Prin urmare, coeficientul de partiție (LogP) a fost calculat utilizând software-ul MolDesc.

Având în vedere că rezultatele CLogP obținute atestă că acești heterobiclii par potriviți pentru dezvoltarea viitoare a candidaților cu efect terapeutic[39], au fost selectați 46 de compuși promițători pentru a li se testa activitatea citotoxică *in vitro* folosind cinci tulpini de celule canceroase (A549 – cancer pulmonar, Hs-683 – cancer de gliom, MCF-7 – cancer de sân, SK-MEL-28 și B16-F1 – cancer de melanom: Tabelul 40) prin test MTT (bromură de tetrazoliu albastru de tiazolil).

Dintre aceste structuri studiate, **11** compușii (**5b**, **6h**, **6k**, **6l**, **15d**, **15g**, **15h**, **15l**, **15n**, **15q** și **15r)** au prezentat activități inhibitoare importante împotriva liniilor celulare testate, cu valori IC_{50} între 0,1-1 μM și 1-10 μM μM (IC_{50} definită ca fiind concentrația care induce o reducere de 50% a creșterii celulare după 3 zile de incubație). În plus, heterobiciclurile **5b**, **6l**, **15g**, **15l**, **15n** și **15q** au prezentat o activitate antitumorală mai mare decât controlul pozitiv 5-fluorouracil împotriva celulelor Hs-683 și SK-MEL-28 cu valori IC_{50} între 0,1 și 10μM. Acești compuși poartă ca și caracteristici comune grupări puternice atrăgătoare de electroni, cum ar fi NO_2, CF_3 sau grupări donoare de electroni, cum ar fi CH_3O. Deși prezența lor pare a fi crucială pentru activitatea biologică manifestată, nu se poate afirma doar pe baza acestor rezultate preliminare că acesta este singurul element structural determinant.

Continuarea investigației poate oferi informații valoroase pentru dezvoltarea ulterioară a pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor și a pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor care conțin grupări fenil aromatice monosubstituite ca potențiali agenți antitumorali.[40] De asemenea, se remarcă faptul că prezența ambelor grupări *p*-CF_3 și *p*-CH_3O- pe inelul aromatic pare să afecteze activitatea antitumorală a compușilor heterobiciclici studiați.

[39] T. Sakaeda, N. Okamura, S. Nagata, T. Yagami, M. Horinouchi, K. Okumura, F. Yamashita, M. Hashida, *Biol. Pharm. Bull.* **2001**, *24*, 935-940.
[40] N.-C. Ostache, A. Pâris, M.-A. Hiebel, A.-L. Fînaru, R. Daniellou, F. Suzenet, G. Guillaumet, *Farmacia* **2021**, *70*, 258-265.

Concluzii

Două serii de analogi originali (pirazolo[3,4-*d*]tiazoli și pirazolo[3,4-*c*]pirazol) au fost testate pentru activitățile lor citotoxice împotriva a patru tulpini de celule canceroase umane și una de șoarece.

Testele biologice *in vitro* au demonstrat faptul că pirazolo[3,4-*d*]tiazolul care conține atât grupări trifluormetil cât și metoxi pe nucleele fenil (compusul **6l**) prezintă o bună activitate citotoxică împotriva Hs-683 (IC_{50} = 0,1-1 μM) și A-549 (IC_{50} = 1-10 μM). Prezența substituenților ciano și/sau metoxi pe inelele fenil atașate la pirazolo[3,4-*c*]pirazoli a arătat un efect antitumoral încurajator împotriva A-549 (IC_{50} = 1-10 μM pentru compușii **15g**, **15l**, **15n**), Hs-683 (IC_{50} = 1-10 μM pentru compușii **15g**, **15l**), MCF-7 (IC_{50} = 1-10 μM pentru compușii **15g**, **15l**, **15n**), SK-MEL-28 (IC_{50} = 1-10 μM pentru compusul **15n**) și B16-F1 (IC_{50} = 1-10 μM pentru compusul **15l**).

Rezultatele obținute sunt promițătoare, iar alte studii privind optimizarea structurală a moleculelor ce conțin gruparea fenil substituită (metoxi, trifluormetil și ciano) sunt în curs de desfășurare, având ca scop îmbunătățirea potențialului lor antitumoral.

CONCLUZII GENERALE ȘI PERSPECTIVE

În conformitate cu obiectivele propuse, în această teză dedicată domeniului Ingineriei Mediului, ne-am interesat de aspectul verde al reacțiilor cheie aplicate în sinteza de noi molecule potențial bioactive (pirazolo[3,4-*d*]tiazoli și pirazolo[3,4-*c*]pirazoli).

Pentru aceasta, în prima parte a acestei lucrări, un studiu bibliografic detaliat privind axele principale pentru dezvoltarea tehnologiilor de chimie verde rezumate în „Cele 12 principii ale chimiei verzi", stabilite de chimiștii Anastas și Warner și completate în 2003 de cele 12 principii ale „Ingineriei Verzi" a fost realizat. Prin aplicarea acestor principii, care pun accent pe eficiența și optimizarea proceselor utilizate pentru a le face compatibile cu considerentele ecologice, chimia poate aduce o contribuție importantă la conceptul de economie circulară care constituie astăzi baza dezvoltării durabile. Au fost prezentate, de asemenea, diferitele abordări de măsurare a impactului asupra mediului al proceselor chimice (proceduri de evaluare cantitativă, semi-cantitativă și comparativă).

În acest context, în a doua parte a acestui manuscris, cele două strategii aplicate pentru sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor și pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor au fost evaluate prin analiza semi-cantitativă EcoScale precum și prin calculul unor indicatori asociați bilanțului de masă (economia de atomi (EA), eficiența masică a reacției conform Curzons ($EMR_{Curzons}$), factorul stoechiometric (FS) și eficiența masică globală a reacției (gEMR)).

Scorurile generale ale analizei EcoScale aplicate la evaluarea etapelor cheie în sinteza pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor, și anume formarea hidrazonei **4a** și ciclizarea acesteia conform uneia dintre cele două strategii (cuplarea Buchwald-Hartwig şi condensarea Ullmann) pe cale secvenţială plasează această sinteză în domeniul unui proces acceptabil indiferent de calea de ciclizare aleasă. Trebuie remarcat totuși faptul că, în ciuda unei purificări mai laborioase în cazul utilizării condensării Ullmann, rezultatele analizei EcoScale o favorizează față de cuplarea Buchwald-Hartwig (**62%** *vs.* **51%**). Aplicarea condensării Ullmann pentru etapa de ciclizare a făcut posibilă obținerea a 8 noi pirazolo[3,4-*d*]tiazoli funcționalizați în poziția 1 cu un scor cumulat prin analiza EcoScale caracteristic unui proces adecvat (între 50,5% si 73%) pentru șase (**5b-f** și **5h**) din cei opt compuși, iar pentru ceilalți doi compuși (**5a** și **5g**) scorurile obținute corespund unui procedeu considerat excelent (78,5% și 77%).

Cu acest rezultat favorabil obținut, s-a testat apoi obținerea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor prin condensarea Ullmann într-o manieră „one-pot". În acest caz, pentru compusul **5a**, scorul cumulat prin analiza EcoScale a fost de 78,5%, ceea ce este caracteristic unui proces considerat a fi excelent (mai mare de 75%). Prin această strategie au fost obținute randamente mai mari comparativ cu procedeul secvenţial pentru compuşii **5b-h**.

Parametrii masici (randament, economia de atomi, eficiența masică a reacției, factorul stoechiometric și eficiența masică globală a reacției) întăresc ideea enunțată mai sus, cu valori mai eco-compatibile în cazul în care condensarea Ullmann este aleasă pentru prepararea

pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor **5a-h**, atât în cazul rutei secvenţiale, cât mai ales prin metodologia „one-pot”.

În ceea ce privește optimizarea sintezei pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor **13a-i** care implică o transformare „one-pot” incluzând o condensare cu diverse hidrazine monosubstituite, urmată de o reacție de ciclizare Ullmann fără ligand prin iradiere cu microunde, scorurile acumulate prin analiza EcoScale sunt caracteristice unui proces „one-pot” acceptabil (mai mult de 50% pentru cei 9 compuși). Trebuie menționat faptul că, chiar dacă scorul EcoScale corespunde unui proces acceptabil, aceasta nu înseamnă neapărat că protocolul nu respectă principiile chimiei verzi. De exemplu, înlocuirea încălzirii convenționale prin utilizarea reactorului cu microunde, penalizată conform analizei EcoScale, a permis o reducere semnificativă a timpului de reacție și o creștere a randamentului pentru toți compușii. În același timp, parametrii de echilibru de masă asociați confirmă rezultatele analizei EcoScale care indică un compromis bun între chimia verde și eficiența metodei de sinteză optimizată.

Chiar dacă în analizele EcoScale deja prezentate solvenții și pictogramele au fost excluși, a fost realizată o evaluare a compatibilităților solvenților utilizați în etapele de sinteză și purificare a produselor obținute pe baza ghidului CHEM21.

Pentru sinteza și purificarea pirazolo[3,4-*d*]tiazolilor și a pirazolo[3,4-*c*]pirazolilor, diferiți solvenți recomandați (etanol, acetat de etil), problematici (metanol) dar și periculoși (eter de petrol, DCM, DMF, DMA) au fost utilizați. Etanolul folosit în prima etapă a sintezei heterobiciclilor noștri (condensarea hidrazinelor pe gruparea cetonică) este un solvent recomandat conform ghidului CHEM21, care permite din punct de vedere chimic obținerea de hidrazone intermediare cu randamente bune spre foarte bune.

Pentru solvenții aprotici dipolari, și având în vedere modul în care sunt încadrați de către ghidul CHEM21, va fi necesar un studiu mai aprofundat pentru a găsi alte opțiuni mai respectuoase pentru mediu.

Pe parcursul acestui capitol se poate observa faptul că analiza EcoScale reprezintă un instrument de evaluare rapidă care facilitează compararea diferitelor rute sintetice, incluzând diverse aspecte privind impactul asupra mediului pe parcursul unui proces chimic. Într-adevăr, este posibil să se mărească atât randamentul reacției, cât și caracterul ei verde. În plus, strategia „one-pot” favorizată de analiza EcoScale conduce la o reducere a timpului de sinteză combinată cu o creștere a randamentului total, făcând astfel posibilă reducerea costurilor de sinteză. Calculele parametrilor de bilanț de masă în funcție de fiecare etapă au făcut posibilă confirmarea rezultatelor analizei EcoScale.

În ceea ce privește potențialul terapeutic, cele două serii de analogi originali (pirazolo[3,4-*d*]tiazoli și pirazolo[3,4-*c*]pirazoli) au fost testate pentru activitățile lor citotoxice împotriva a patru tulpini de celule canceroase umane și a uneia de șoarece. Pentru seria pirazolo[3,4-*d*]tiazoli, testele biologice *in vitro* au demonstrat faptul că **6l,** compusul care conține atât grupări trifluormetil cât și metoxi pe inelele fenil a prezentat activități citotoxice bune până la excelente împotriva tulpinilor celulare Hs-683 (IC_{50} = 0,1-1 μM) și A-549 (IC_{50} = 1-10 uM).

În cazul seriei pirazolo[3,4-*c*]pirazoli, prezența substituenților ciano și/sau metoxi pe inelele fenil atașate a indicat un efect antitumoral încurajator împotriva celulelor A-549 (IC_{50} = 1-10 μM / compușii **15g**, **15l**, **15n**), Hs-683 (IC_{50} = 1-10 μM / compușii **15g**, **15l**), MCF-7 (IC_{50} = 1-10 μM / compușii **15g**, **15l**, **15n**), SK-MEL-28 (IC_{50} = 1-10 μM / compusul **15n**) și B16-F1 (IC_{50} = 1-10 μM / compusul **15l**).

Luând în considere anasamblul rezultatelor obținute, continuarea acestui studiu, bazat pe principiile Economiei Circulare și Chimiei Verzi și ținând seama de varietatea caracteristicilor referitoare la produșii de plecare, condițiile de reacție, complexitatea produselor obținute la scară de laborator etc., vizează trei direcții principale:

- ✓ optimizarea structurală în vederea îmbunătățirii activității biologice;
- ✓ identificarea de soluții verzi alternative la solvenții dipolari aprotici necesari pentru sinteză/purificare;
- ✓ efectuarea unei analize a ciclului de viață, la nivel de laborator, pentru compușii care au prezentat activitate antitumorală încurajatoare precum și pentru procedeele aplicate.

În concluzie, considerăm că trebuie găsit întotdeauna un bun compromis între menținerea celor mai bune performanțe în procesul de obținere a noilor compuși și utilizarea celor mai respectuoase condiții posibile în raport cu sănătatea și mediul înconjurător.

DISEMINAREA ȘI VALORIFICAREA REZULTATELOR ORIGINALE

Publicații (P)

P1. Ostache, N-C., Hiebel, M-A., Fînaru, A-L., Guillaumet G., Suzenet, F., *Copper-assisted synthesis of novel pyrazolo[3,4-d]thiazoles*, ***ChemCatChem*** (ISSN 1867-3880; eISSN: 1867-3899), **2019**, vol. 11. nr. 15, p. 3530-3533, https://doi.org/10.1002/cctc.201900707 (**IF_{2019} = 4,853**).

P2. Ostache, N-C., Hiebel, M-A., Fînaru, A-L., Allouchi, H., Guillaumet G., Suzenet, F., *Access and modulation of substituted 1-methyl-1,6-dihydropyrazolo[3,4-c]pyrazoles*, ***RSC Advances***, **2021**, vol. 11, nr. 16, p. 9756-9765, https://doi.org/10.1039/D1RA00314C (**IF_{2020} = 3,361**).

P3. Ostache, N-C., Paris, A., Hiebel, M-A., Fînaru, A-L., Daniellou, R., Suzenet, F., Guillaumet G., **2022**, *Cytotoxic evaluation of original pyrazolo[3,4-d]thiazoles and pyrazolo[3,4-c]pyrazoles,* ***FARMACIA***, vol. 70, nr. 2, p. 258-265, https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.2.10 (**FI_{2020} = 1,433**).

Comunicări orale (CO)

CO1. Ostache, N.-C.; Fînaru, A.-L.; Suzenet, F.; Guillaumet, G.: Straightforward synthesis towards diversely functionalized pyrazolo[3,4-*d*]thiazoles; A IX-a Conferință Internațională a Chimiei Kiev-Toulouse (ICKT-9); iunie **2017** – Kiev (Ucraina);

CO2. Ostache, N.-C.; Hiebel, M.-A.; Fînaru, A.-L.; Suzenet, F.; Guillaumet, G.: Efficient synthesis of novel polysubstituted pyrazolo[3,4-*d*]thiazoles; Ziua Tinerilor Cercetători ai Secțiunii Regionale Centru-Est a Societății de Chimie din Franța; februarie **2018** – La Rochelle (Franța);

CO3. Ostache, N.-C.; Hiebel, M.-A.; Suzenet, F.; Fînaru, A.-L.; Guillaumet, G.: Synthèse et réactivité de nouveaux pyrazolo [3,4-*c*]pyrazoles; Colocviul Franco-Român de Chimie Aplicată (CoFrRoCA); iunie **2018** – Bacău (România).

Comunicări prin afiș/poster (CA)

CA1. **Ostache, N.-C.**; Fînaru, A.-L.; Suzenet, F.; Guillaumet, G.: Systèmes hétéroaromatiques bicycliques 5-5: étude et fonctionnalisation; Al IX-lea Colocviu Franco-Român de Chimie Aplicată (COFrRoCA); iulie **2016** – Clermont Ferrand (Franța);

CA2. **Ostache, N.-C**.; Fînaru, A.-L.; Suzenet, F.; Guillaumet, G.: 5-5 Bicyclic heteroaromatic systems: study and functionalization; Ziua Chimiei Organice (JCO); septembrie **2016** – Palaiseau (Franța);

CA3. **Ostache, N.-C.**; Fînaru, A.-L.; Suzenet, F.; Guillaumet, G.: Facile access to functionalized pyrazolo[3,4-*d*]thiazoles; Ediția XXIV a Zilelor Tinerilor Cercetători (SCT); februarie **2017** – Châtenay-Malabry (Franța) ;

CA4. Ostache, N.-C.; Hiebel, M.-A.; Suzenet, F.; Fînaru, A.-L.; Guillaumet, G.: Access to novel designed pyrazolo[3,4-*c*]pyrazoles: efficient methodology and reactivity study; Al XVI-lea Simpozion Belgian de Sinteză Organică (BOSS XVI); iulie **2018** – Bruxelles (Belgia);

CA5. Ostache, N.-C.; **Hiebel, M.-A.**; Suzenet, F.; Fînaru, A.-L.; Guillaumet, G.: Access to novel designed pyrazolo[3,4-*c*]pyrazoles: efficient methodology and reactivity study; A LIV-a Întâlnire Internațională de Chimie Terapeutică (RICT); iulie **2018** – Strasbourg (Franța);

CA6. Ostache, N-C.; Hiebel, M-A.; Fînaru, A-L.; Guillaumet G.; Suzenet, F.: Quick access, modulation and study of pyrazolo[3,4-*d*]thiazoles, A IX-a Conferință Internațională a Societăților de Chimie din Țările Europei de Sud-Est (ICOSECS); 8 – 11 Mai, **2019 –** Târgoviște (România), http://events.icstm.ro/index.php/ICOSECS/9.

CA7. Ostache, N-C.; Hiebel, M-A.; Allouchi H.; Suzenet, F.; Fînaru, A-L.; Guillaumet G.: Synthesis and reactivity of original pyrazolo[3,4-*c*]pyrazoles, A 21-a Conferință Internațională de Chimie și Inginerie Chimică (RICCCE 21); septembrie **2019**, Constanța – Mamaia (România).

Proiecte și seminarii susținute

în cadrul programului de cercetare științifică (Școala de Studii Doctorale, IOSUD-UBc):

1. *Sinteza şi funcţionalizarea eco-compatibilă a sistemelor biciclice poliazotate 5-5 – importanţă şi obiective* – **Proiect de cercetare științifică/01.06.2016;**

2. *Studiu bibliografic privind sinteza şi reactivitatea sistemelor biciclice poliazotate 5-5 de tip pirazolo[3,4-d]tiazoli* – **Referat I/23.12.2016;**

3. *Rezultate experimentale privind sinteza şi funcţionalizarea sistemelor biciclice poliazotate 5-5 de tip pirazolo[3,4-d]tiazoli şi pirazolo[3,4-c]pirazoli* – **Referat II/11.09.2017**;

4. *Evaluarea rezultatelor experimentale privind obținerea sistemelor biciclice poliazotate 5-5 de tip pirazolo[3,4-d]tiazoli şi pirazolo[3,4-c]pirazoli din punct de vedere al principiilor chimiei verzi* – **Referat III/12.09.2017**.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

[1] N.-C. Ostache, Université d'Orléans, **Ph.D. Dissertation, Université d'Orléans, 2019 http://www.theses.fr/2019ORLE3015.**

[2] N.-C. Ostache, M.-A. Hiebel, A.-L. Fînaru, G. Guillaumet and F. Suzenet, *ChemCatChem* **2019**, *11*, 3530-3533.

[3] N.-C. Ostache, M.-A. Hiebel, A.-L. Fînaru, H. Allouchi, G. Guillaumet and F. Suzenet, *RSC Advances* **2021**, *11*, 9756-9765.

[4] J. H. Clark, *Green Chem.* **1999**, *1*, 1-8.

[5] P. T. Anastas and J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Science Publications, Oxford, **1998**, p.

[6] M. Poliakoff, J. M. Fitzpatrick, T. R. Farren and P. T. Anastas, *Science* **2002**, *297*, 807-810.

[7] P. Anastas and N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, *39*, 301-312.

[8] P. T. Anastas and J. B. Zimmerman, *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 94A-101A.

[9] P. Tundo, P. Anastas, C. Black David St, J. Breen, J. Collins Terrence, S. Memoli, J. Miyamoto, M. Polyakoff and W. Tumas in *Synthetic pathways and processes in green chemistry. Introductory overview*, *Vol. 72* **2000**, pp. 1207-1228.

[10] G. Chatel, *L'Actualité Chimique* **2020**, *456-457-458*, 8-10.

[11] G. Chatel, *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 9665-9673.

[12] E. Cséfalvay, G. R. Akien, L. Qi and I. T. Horváth, *Catal. Today* **2015**, *239*, 50-55.

[13] M. Beller, G. Centi and L. Sun, *ChemSusChem* **2017**, *10*, 6-13.

[14] R. A. Sheldon and J. M. Woodley, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 801-838.

[15] B. Trost, *Science* **1991**, *254*, 1471-1477.

[16] R. A. Sheldon, *Chem. Ind.* **1992**, 903-906.

[17] R. A. Sheldon, *Green Chem.* **2017**, *19*, 18-43.

[18] M. Eissen and J. O. Metzger, *Chem. Eur. J.* **2002**, *8*, 3580-3585.

[19] K. Van Aken, L. Strekowski and L. Patiny, *Beilstein J. Org. Chem.* **2006**, *2*, 1-7.

[20] A. Lapkin and D. Constable, Eds., *Green Chemistry Metrics: Measuring and Monitoring Sustainable Processes*, Wiley-Blackwell: Chichester, U.K., **2008**, p.

[21] J. Andraos, *The Algebra of Organic Synthesis: Green Metrics, Design Strategy, Route Selection and Optimization*, CRC Press/Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, **2012**, p.

[22] A. D. Curzons, D. J. C. Constable, D. N. Mortimer and V. L. Cunningham, *Green Chem.* **2001**, *3*, 1-6.

[23] D. J. C. Constable, A. D. Curzons and V. L. Cunningham, *Green Chem.* **2002**, *4*, 521-527.

[24] C. Jimenez-Gonzalez, C. S. Ponder, Q. B. Broxterman and J. B. Manley, *Org. Process Res. Dev.* **2011**, *15*, 912-917.

[25] C. Jiménez-González, C. Ollech, W. Pyrz, D. Hughes, Q. B. Broxterman and N. Bhathela, *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *17*, 239-246.

[26] M. A. Curran, *Curr. Opin. Chem. Eng.* **2013**, *2*, 273-277.

[27] W. E. Klöpffer, *Background and Future Prospects in Life Cycle Assessment*, Springer, Dordrecht, Pays-Bas, **2014**, p.
[28] L. M. Gilbertson, J. B. Zimmerman, D. L. Plata, J. E. Hutchison and P. T. Anastas, *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 5758-5777.
[29] A. D. Curzons, C. Jiménez-González, A. L. Duncan, D. J. C. Constable and V. L. Cunningham, *Int. J. Life Cycle Assessment* **2007**, *12*, 272.
[30] C. Jiménez-González and M. R. Overcash, *Green Chem.* **2014**, *16*, 3392-3400.
[31] P. Saling, R. Maisch, M. Silvani and N. König, *Int. J. Life Cycle Assessment* **2005**, *10*, 364-371.
[32] L. Leseurre, C. Merea, S. Duprat de Paule and A. Pinchart, *Green Chem.* **2014**, *16*, 1139-1148.
[33] M. Tobiszewski, M. Marć, A. Gałuszka and J. Namieśnik, *Molecules* **2015**, *20*, 10928-10946.
[34] J. D. Moseley and P. M. Murray, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2014**, *89*, 623-632.
[35] A. Benazzouz, L. Moity, C. Pierlot, M. Sergent, V. Molinier and J.-M. Aubry, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2013**, *52*, 16585-16597.
[36] C. M. Hansen, *J. Paint Technol.* **1967**, *39*, 104-117.
[37] A. Jordan, C. G. J. Hall, L. R. Thorp and H. F. Sneddon, *Chem. Rev.* **2022**, *122*, 6749-6794.
[38] A. Duereh, Y. Sato, R. L. Smith and H. Inomata, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 114-124.
[39] T. Sakaeda, N. Okamura, S. Nagata, T. Yagami, M. Horinouchi, K. Okumura, F. Yamashita and M. Hashida, *Biol. Pharm. Bull.* **2001**, *24*, 935-940.
[40] N.-C. Ostache, A. Pâris, M.-A. Hiebel, A.-L. Fînaru, R. Daniellou, F. Suzenet and G. Guillaumet, *Farmacia* **2022**, *70*, 258-265.