



UNIVERSITATEA BABEŞ-BOLYAI

FACULTATEA DE FIZICĂ

Bebu Andreea Mihaela

Investigații structurale asupra unor compuși moleculari de interes biologic

Rezumatul Tezei de Doctorat

Conducător științific

Prof. dr. David Leontin

Cluj-Napoca

2012

CUPRINS

INTRODUCERE.....	8
1. COMPLECȘI METALICI DE INTERES BIOLOGIC.....	15
1.1 Activitatea biologică a metalelor.....	16
1.2 Activitatea biologică a complexilor metalici cu liganzi de interes biologic....	19
2. METODE EXPERIMENTALE DE INVESTIGARE A COMPLECȘILOR MOLECULARI.....	22
2.1 Analiza chimică elementală.....	22
2.2 Absorbție atomică de masă.....	25
2.3 Analiza termogravimetrică (TG).....	26
2.4 Analiza calorimetrică diferențială (DSC).....	27
2.5 Spectroscopie electronică.....	30
2.6 Spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR).....	36
2.7 Rezonanța electronică de spin (RES).....	40
2.8 Introducere în tehnicile spectroscopice vibraționale Raman.....	46
3.COMPLECȘI METALICI CU FENILALANINĂ CA ȘI LIGAND.....	61
3.1 Introducere.....	61
3.2 Sinteza unor complecși metalici cu fenilalanină.....	62
3.3 Metode de investigare a complexilor metalici.....	64
3.4 Concluzii parțiale.....	75
4. STUDII SPECTROSCOPICE ȘI TEORETICE ASUPRA MOLECULEI DE AMOXICILINĂ.....	77
4.1 Introducere.....	77
4.2 Metode computaționale de investigare a structurii moleculare.....	78
4.3 Rezultate și discuții.....	80
4.4 Concluzii parțiale.....	90

Concluzii	91
Bibliografie	94

Cuvinte cheie: DFT, FT-IR, FT-Raman, SERS, UV-Vis, Amoxicillin, Phenylalanina

Introducere

Ionii metalici îndeplinesc în organismele vii anumite funcții importante sau au asupra acestora diferite acțiuni. În general, ionii metalici se găsesc în organismele vii sau acționează în cadrul acestora sub formă de complecși sau prin formare de complecși, de regulă chelați, în care ionul generator de complex este implicat în formarea unor cicluri chelate. Participarea ionilor metalici la procesele biologice constă în contribuția lor la formarea și ruperea legăturilor chimice, la transferul de sarcină și de oxigen, la fixarea azotului, în fotosinteză, la menținerea balanței osmotice în sistemele multifazice și la reacțiile enzimatiche.

Principalele metode spectroscopice folosite pentru determinarea modurilor vibraționale în molecule se bazează pe procesele de absorbție infraroșie și de împrăștiere Raman.

Cele mai uzuale tehnici de a investiga structura energetică vibrațională sunt spectroscopia de absorbție IR și împrăștierea Raman. În absorbția IR substanța este iradiată cu un spectru larg de frecvențe din domeniul spectral IR mijlociu, în urma interacțiunii cu moleculele fiind absorbiți fotoni ai căror energie corespunde diferenței dintre două nivele energetice vibraționale. În cazul împrăștierii Raman este folosită radiație monocromatică, o sursă laser, fotonii suferind ciocniri elastice și neelastice cu moleculele. În spectroscopia Raman sunt analizate lungimile de undă ale fotonilor împrăștiați neelastici, aceștia oferind informații legate de modurile de vibrație ale moleculelor.

Aceste metode se folosesc cu precădere pentru obținerea de informații despre structura chimică și forma fizică, pentru identificarea substanțelor cu ajutorul spectrelor caracteristice precum și pentru determinările cantitative și semicantitative dintr-un eșantion de substanță. De asemenea spectroscopia în domeniul infraroșu (IR) este o metodă potrivită de identificare a prezenței grupărilor funcționale din structura moleculelor compușilor organici

Spectroscopia poate fi împărțită în mai multe ramuri, în funcție de lungimea de undă a radiației electromagnetice din spectrul considerat. Astfel, avem spectroscopie de microunde, infraroșu, vizibil și ultraviolet. În funcție de tipul tranziției implicate în procesul de emisie sau absorbție vorbim despre spectroscopie de rotație, vibrație, electronică și de ionizare. Există un tip de spectru care nu implică nici proces de absorbție, nici de emisie. Este vorba

despre spectroscopia Raman care studiază radiația împrăștiată (difuzată) de probă. Sursa radiației poate fi în vizibil, ultraviolet apropiat sau infraroșu apropiat.

Efectul SERS a fost accidental descoperit în 1974 în timp ce cercetătorii încercau să obțină semnal Raman pe electrod. Ideea inițială era generarea unei suprafețe mari pe un metal rugos. Gradual cercetătorii au realizat că aria de suprafață nu este punctul cheie în acest fenomen. După o perioadă de căutări, progresul a avut loc în 1977 când două grupuri de cercetători au descoperit că electrodul de argint brut produce un spectru Raman care este de un milion de ori mai intens decât spectrul Raman normal. Acest semnal enorm de puternic a debutat cu împrăștierea Raman amplificată de suprafață (SERS). În prezent, SERS depășește complet dezavantajul secțiunii de împrăștiere mici a spectroscopiei Raman, și poate fi folosită chiar și pentru a obține semnal Raman de la o singură moleculă.

1.COMPLECȘI METALICI DE INTERES BIOLOGIC

Dezvoltarea actuală a științei și tehnicii se bazează în cea mai mare măsură pe posibilitatea obținerii de materiale variate, cu proprietăți predestinate care să răspundă diverselor scopuri practice. Această posibilitate se bazează în special pe corelarea dintre sinteza și proprietățile fizico-chimice ale materialelor.

Analiza structurală urmărește formarea unei imagini corecte asupra materiei, în general, și a substanței, în special, printr-o prezentare unitară a parametrilor structurali care caracterizează substanțele chimice, prin indicarea metodelor fizice utilizate în investigarea structurii substanțelor și prin prezentarea legăturilor logice dintre parametrii fizici analizați și metodele de investigare folosite.

Legătura dintre proprietățile fizice și chimice ale substanțelor și structura lor decurge din modul și cauzele pentru care substanțele interacționează între ele, precum și cu câmpurile de radiații, pe baza structurii atomilor, moleculelor și cristalelor din care sunt formate [1].

Studiul substanțelor impune determinarea proprietăților fizice (însușiri măsurabile și exprimabile numeric), a proprietăților chimice (sau a reacțiilor chimice), a compoziției calitative și cantitative (natura și proporția elementelor) și a structurii, adică modul de aranjare al elementelor structurale componente unele față de altele și anume moleculele, atomii și ionii.

3.COMPLECȘI METALICI CU FENILALANINĂ CA ȘI LIGAND

3.1 Introducere

În ultimii ani importanța ionilor metalici pentru buna funcționare a organismelor animale și vegetale, a fost evidențiată prin publicarea a numeroase lucrări în domeniul biofizicii și biochimiei. Ultimele cercetări din aceste domenii se axează pe sinteza și caracterizarea compușilor biologici ce conțin ioni metalici, datorită aplicabilității acestora în farmacie, medicină, agronomie și nutriție [1].

Procesele biologice implică compuși formați de diferitele elemente ale sistemului periodic cu substratul biologic. Organismele animale și vegetale sunt constituite din substanțe chimice cu o compoziție complexă, fiind formate atât din metale cât și din nemetale. Elementele chimice care intră în componența materiei vii sunt selectate de către natură, după anumite principii care nu sunt încă bine elucidate, dar se poate afirma cu certitudine, că răspândirea lor în mediu, nu este elementul hotărâtor.

Complexitatea și diversitatea peptidelor și proteinelor se datorează atât numărului mare de alternative de legare a unui număr mic de α - aminoacizi în vederea formării lor, cât și unor particularități de conformație și configurație a moleculelor acestora. Ele sunt generate de alternanța elementelor rigid plane (legătura poliamidică conjugată) din structură cu elemente de mobilitate (atomi de carbon hibridizați sp^3) capabile să genereze chiralitate de axă. În plus, posibilitatea stabilirii unor legături (van der Waals, de hidrogen, dipol-dipol, inducție, dispersie inter și intramoleculare) conduc la stabilizarea unor conformații ca entități bine individualizate.

Alfa aminoacizii formează cu metalele tranziționale complecși interni sau chelați colorați, foarte greu solubili și stabili. Metalele divalente cum sunt: Mn(II), Cu(II) și Ni(II) pot forma compuși coordinativi în care metalul leagă două molecule de aminoacid prin azot și oxigen realizând frecvent un număr de coordinare 4 și o configurație plan-pătrată sau pseudotetraedrală. Metalele trivalente de tipul Fe(III), Co(III) pot forma săruri complexe cu trei molecule de aminoacid în care metalul realizează numărul de coordinare 6.

3.2 Sinteza unor complecși metalici cu aminoacizi

Sinteza compușilor coordinativi ai metalelor cu Cu(II), Co(II) și Zn(II) cu *fenilalanina* are loc în trei etape:

- a) prepararea soluției de sare de metal;
- b) prepararea soluției de ligand;
- c) sinteza propriu-zisă și purificarea compușilor obținuți;

Metoda de sinteză pe care am ales-o, se bazează pe cea propusă de Lancashire [104], și urmărește obținerea unor complecși neutri de tip $ML_2 \cdot nH_2O$, la un pH între 8 și 10, când în prezența unei baze tari se pot realiza condițiile de ionizare ale aminoacidului.

3.2.1 Sinteza complecșilor de cupru

Se cântăresc 2 mmol de aminoacid (0.320 g L și 0.262g L) și se dizolvă într-un volum minim de apă distilată (max.5ml). Se calculează volumul de NaOH 6M necesar pentru a înlocui un proton din fiecare mol de aminoacid (0.33ml) și se adaugă în picături peste soluția de aminoacid. Se cântărește cantitatea echivalentă unui mmol de sare cuprică. Dacă se utilizează azotat cupric, $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, se cântăresc 0.241g și se dizolvă în 2 ml apă distilată. Se adaugă apoi soluția de sare cuprică peste soluția de aminoacid și se agită timp de câteva minute cu agitatorul magnetic. Precipitatul se filtrează, se spală cu etanol și se lasă la temperatura camerei pentru uscare, după care se păstrează în recipiente închise în vederea efectuării analizelor necesare.

Tabelul 1.3 *Complecși de Cu(II) cu fenilalanină*

<i>Compus</i>	<i>Simbol</i>	<i>Culoare</i>	<i>Randament</i>	<i>Punct de topire</i>
$Cu(\text{fenilalanina})_2 \cdot H_2O$	Cu-L	Albastru verzui	98.6%	220 °C

3.2.2 Sinteza complecșilor de cobalt

Se cântăresc 2 mmoli de aminoacid (0.330 g L și 0.286 g L) și se dizolvă într-un volum minim de apă distilată (max.5ml). Se calculează volumul de NaOH 6M necesar pentru a înlocui un proton din fiecare mol de aminoacid (0.33ml) și se adaugă în picături peste soluția de aminoacid. Se cântăresc 0.238 sare de cobalt și se dizolvă în 2 ml apă distilată. Se adaugă apoi peste soluția de aminoacid și se agită timp de câteva minute pe agitatorul magnetic. Precipitatul obținut în cazul complexului Co-L se filtrează, se spală cu etanol și se

lasă la temperatura camerei pentru uscare, după care se păstrează în recipiente închise în vederea efectuării analizelor necesare.

Tabelul 2.3 *Complecși de Co(II) cu fenilalanina*

<i>Compus</i>	<i>Simbol</i>	<i>Culoare</i>	<i>Randament</i>	<i>Punct de topire</i>
$Co(\text{fenilalanina})_2 \cdot 2H_2O$	Co-L	Mov-deschis	54.4%	255 °C

3.2.3 Sinteza complecșilor de zinc

Se cântăresc 2 mmoli de aminoacid (0.320 g L și 0.286 g L) și se dizolvă în apă distilată caldă(5ml). Se calculează volumul de NaOH 6M necesar pentru a înlocui un proton din fiecare mol de aminoacid (0.33ml) și se adaugă în picături peste soluția de aminoacid. Se cântărește cantitatea echivalentă unui mmol de sare de zinc $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (0.287g) și se dizolva în apă distilată, se adaugă apoi peste soluția de aminoacid și se agită timp de câteva minute pe agitatorul magnetic.

Precipitatul se filtrează, se spală cu etanol și se lasă la temperatura camerei pentru uscare, după care se păstrează în recipiente închise în vederea efectuării analizelor necesare.

Tabel 3.3. *Complecși ai Zn cu fenilalanina*

<i>Compus</i>	<i>Simbol</i>	<i>Culoare</i>	<i>Randament</i>	<i>Punct de topire</i>
$Zn(\text{fenilalanina})_2 \cdot H_2O$	Zn-L	Alb-amorf	94.4%	175 °C

3.3 Metode de investigare a complecșilor metalici

Această parte a lucrării conține capitole de sinteză și pregătire a probelor pentru analiză, precum și diferite metode fizico-chimice, termice și spectroscopice de investigare a complecșilor metalici în vederea determinării:

- Modul de coordinare al ionului metalic cu liganzii

- Schimbarea structurii locale în funcție de ligand
- Schimbarea simetriei locale în jurul ionilor paramagnetici
- Prezența speciilor dimerice
-

Etapele parcurse până la ora actuală pot fi rezumate astfel:

Sinteze	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stabilirea condițiilor de sinteză pentru obținerea compușilor metalici cu diferiți aminoacizi ca și liganzi
Caracterizarea compușilor de interes biologic	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analiza chimică elementară ▪ Spectroscopie de absorbție atomică ▪ Analiză termică <ul style="list-style-type: none"> - Analiza termogravimetrică - Analiza termica diferențială ▪ Studiul spectrelor în domeniul IR ▪ Studiul spectrelor în Ultraviolet (UV) și Vizibil ▪ Studiul spectrelor prin Rezonanța Electronică de Spin (RES)

Dispozitivele experimentale:

Analiza elementală a fost realizată cu ajutorul unui dispozitiv Vario El care permite determinarea cantitativă a carbonului, azotului, hidrogenului, sulfului și oxigenului în diferite modalități de operare CHN, CNS, CN, CHSN, CHNSO.

Măsurătorile de absorbție atomică de masă au fost realizate cu un dispozitiv AAS-1 la lungimea de undă = 320 nm. Probele au fost preparate după cum urmează :

- s-a cântărit o cantitate de 0,02g de complex, care a fost dizolvată în câțiva mililitri de apă distilată. Au fost adăugați 5 ml HCl 35% pentru descompunerea complexului.

Soluția a fost completată până la 100 ml cu apă distilată, diluția soluției fiind de 1:2.

Spectrele în ultraviolet și vizibil au fost înregistrate cu un spectrofotometru Jasco- V-530 la lungimi de undă cuprinse între 190 și 800 nm.

Comportarea termică a complexelor de cupru a fost determinată prin înregistrarea curbelor de termoliză cu un Derivatograf Q-1500D, în domeniul de temperatură 20⁰C-500⁰C,

cu o viteză de încălzire constantă de $10^{\circ}\text{C}/\text{minut}$. Probele considerate au avut mase cuprinse între 100-300mg.

Analizele calorimetrice diferențiale (DSC) au fost realizate cu un dispozitiv Metler-Toledo, utilizând creuzete de aluminiu care conțineau probele de investigat a căror mase au fost cuprinse între 1 și 2.5 mg. Măsurătorile au avut loc în intervalul $20 - 500^{\circ}\text{C}$, viteza de încălzire fiind de $10^{\circ}\text{C}/\text{minut}$.

Spectrele electronice au fost determinate cu un spectrofotometru Jasco V-530, cu lungimi de undă cuprinse între 190-800nm. În cazul liganzilor, s-au preparat soluții de concentrații 10^{-4}M prin dizolvarea acestora în apă bidistilată. Au fost preparate soluții cu concentrații 10^{-3}M de complecși prin dizolvarea acestora în apă, metanol sau etanol, în funcție de solubilitatea fiecăruia în acești solvenți. Unele situații au necesitat diluare, pentru a putea fi vizualizate mai bine tranzițiile din domeniul UV, caracteristice liganzilor. Înregistrarea spectrelor în domeniul infrarosu a fost făcută cu ajutorul unui spectrofotometru Perkin-Elmer FTIR 1730 pe pastile de KBr în intervalul $4000-400\text{ cm}^{-1}$.

Spectrele de rezonanță electronică de spin au fost înregistrate cu un spectrometru standard ADANI Portable EPR spectrometer PS8400 la 9.56 GHz pe probe solide sau în soluții apoase, la temperatura camerei.

3.3.1 Investigarea complecșilor metalici cu *fenilalanină* ca și ligand

Fenilalanina (L) ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$) este un aminoacid aromatic esențial, care conține un inel benzenic, deci este hidrofobic. Organismul uman transformă fenilalanina în tirozină, un alt aminoacid esențial pentru buna funcționare a creierului, hormonilor tiroidieni, etc. Deficitul de fenilalanină provoacă confuzie, lipsa energiei, capacitate de memorare redusă și pofta de mâncare scăzută [45]. Există o boală metabolică, numită fenilcetonurie care este o boala genetică în care lipsește enzima fenilalaninhidroxilază sau are un nivel foarte scăzut în sânge (PAH). Această enzimă este necesară pentru convertirea fenilalaninei în alt aminoacid numit tirozină. Dacă PKU nu se tratează imediat după naștere fenilalanina se acumulează în sânge și în țesutul cerebral ducând la retard psihic și afectarea sistemului nervos central.

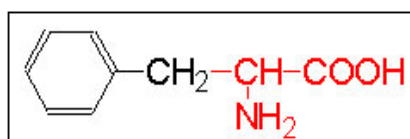


Fig.6.3 Formula structurală a fenilalaninei

3.3.1.1 Analiza chimică elementală și absorbție atomică de masă

Rezultatele analizei elementale și ale absorbției atomice de masă confirmă compoziția 1 : 2 metal : fenilalanină. Datele obținute sunt prezentate în tabelul 4.3.

Tabel 4.3 Rezultatele analizei elementale pentru complexii sintetizați

Complex	Greutate Molec.	% Experimental / calculat			
		C	H	N	Metal
$Cu(L)_2 \cdot H_2O$	407.92	53.40 (53.00)	4.72 (4.94)	7.00 (6.86)	15.82 (15.57)
$Co(L)_2 \cdot 2H_2O$	389.4	51.42 (55.46)	8.59 (8.2)	8.28 (7.59)	20.41 (19.17)
$Zn(L)_2 \cdot H_2O$	395	51.85 (54.69)	9.07 (8.10)	6.57 (7.08)	14.52 (15.25)

3.3.1.2 Analiza termogravimetrică

Derivatograma complexului de cupru cu fenilalanină (Fig. 7.5) prezintă un palier orizontal până la 170⁰C, când apare un efect endoterm corespunzător unei pierderi masive de masă de 80.5% (83.7 % teoretic), indicând ruperea moleculelor de aminoacid. După 250 ⁰C curba de termoliză prezintă o scădere constantă, indicând formarea rezidului de CuO, pentru care pierderea de masă de pe derivatogramă este de 19.5%, iar cea teoretică este de 19.25%. Descompunerea complexului se face într-un interval mic de temperatură, începând de la 350 ⁰C [46-48].

Tabel 5.3 Rezultatele analizei termogravimetrice

Complex	Peak DTG ($^{\circ}C$)		Pierdere de masa TG (%)		Atribuirea
	Endo	Exo	Endo	Exo	
[Cu(L) ₂] H ₂ O	105	-	4.39	4.45	O moleculă de apă de cristalizare
	255	-	-	-	
	-	320	44.46	44.52	Punct de topire
	-	470	35.64	35.15	Rest organic 2C ₇ H ₇ 2C ₂ H ₃ NO ₂
			15.50	15.86	Reziduu CuO

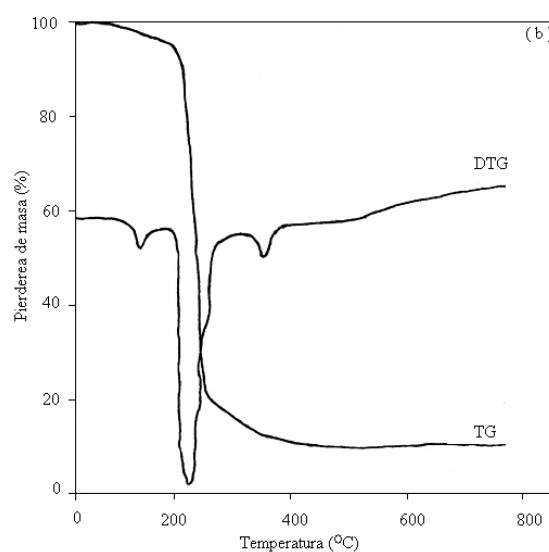


Fig. 7.3 Termograma complexului Cu-L [170]

3.3.1.3 Analiza termică diferențială

În figura de mai sus (Fig.8.5.a) este prezentată curba DSC a standardului de fenilalanină (L), care prezintă într-o primă etapă o tranziție sticloasă, care este un proces endoterm cu un maxim la 170 $^{\circ}C$ [109].

Topirea fenilalaninei are loc cu descompunere, între 220 $^{\circ}C$ și 260 $^{\circ}C$, cu un maxim endotermic la 240 $^{\circ}C$, iar arderea completă are loc după 450 $^{\circ}C$.

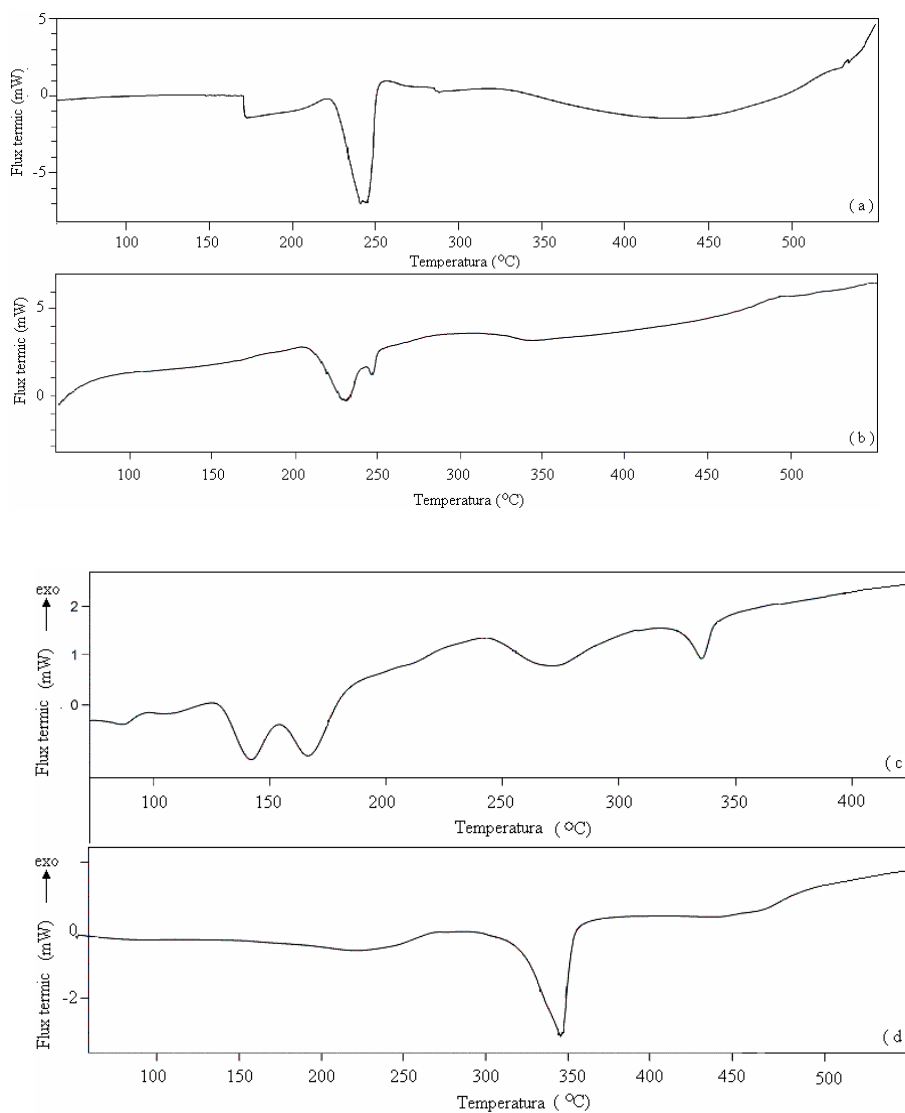


Fig. 8.3 Curbele DSC ale **L** (a), **Cu-L**(b), **Co-L** (c) și **Zn-L** (d)

Complexul de **Cu-L** suferă între 100 și 180 °C un proces de tranziție sticloasă urmat de un proces de descompunere endoterm în două trepte succesive cu maximele la 230 °C și 250 °C. Acest proces se datorează formării unui proces de degradare intermediar. La 300 °C este evidențiat maximul procesului exoterm de cristalizare, urmat la 450 °C de piroliza complexului de cupru [49].

Complexul **Zn-L** (Fig.8.5.d) are o stabilitate termică mai bună decât ligandul corespunzător și complexul de cupru. Curba DSC a acestui complex prezintă un proces de topire cu descompunere între 295 °C și 320 °C urmat de arderea completă după 450 °C.

3.3.1.4 Spectroscopie FT-IR

Spectrul FT-IR al fenilalaninei (**L**) (Fig.6.3.a) prezintă banda caracteristică vibrației de întindere a legăturii N-H, despicată în două semnale la 3078 cm^{-1} , respectiv 3030 cm^{-1} . Această bandă este deplasată la 3320 cm^{-1} , respectiv 3256 cm^{-1} în spectrul complexului Cu-**L**, ceea ce dovedește implicarea grupării aminice la formarea complexului. În cazul complecșilor de cobalt și zinc această bandă este deplasată la 3220 cm^{-1} și 3334 cm^{-1} , respectiv 3256 cm^{-1} sugerând de asemenea implicarea grupării aminice la formarea acestor complecși [46,50].

Vibrațiile de deformare ale grupării $\delta(\text{N-H})$ apar la 1557 cm^{-1} în spectrul ligandului și sunt deplasate la 1567 cm^{-1} pentru Cu-**L**, 1586 cm^{-1} pentru Co-**L** respectiv 1561 cm^{-1} pentru Zn-**L** ceea ce explică de asemenea implicarea acestei grupări la formarea legăturii cu metalul [51].

Vibrația de întindere a $\nu(\text{C=O})$, de care suntem interesați în mod special, apare în cazul ligandului la 1623 cm^{-1} , și este deplasată cu 4 cm^{-1} (pentru Cu-**L**), respectiv 9 cm^{-1} (pentru Zn-**L**) ceea ce demonstrează implicarea grupării carboxil la formarea legăturii covalente cu ionul metalic. În cazul complexului de cobalt banda caracteristică $\nu(\text{C=O})$ apare la 1633 cm^{-1} și nu este bine rezolvată, prezența acestei benzi poate fi atribuită formării legăturii de hidrogen între grupările carboxil și apă sau implicării în coordinare.

Conform literaturii [52] la 603 cm^{-1} și 468 cm^{-1} ar trebui să apară benzile corespunzătoare $\rho(\text{COO}^-)$ aceste benzi neapărând în spectrul complecșilor, ceea ce indică legarea ionului metalic de gruparea carboxilică, din păcate în spectrele de mai jos nu pot fi vizualizate aceste benzi datorită limitării spectrofometrului.

Deoarece structura fenilalaninei are un ciclu benzenic, în spectrul IR vibrațiile de întindere ale ciclului trebuie să se regăsească în două domenii de frecvențe, la 745 cm^{-1} și 1495 cm^{-1} . În cazul complecșilor metalici având ca ligand fenilalanina, benzile caracteristice ciclului aromatic sunt deplasate nesemnificativ sau deloc.

Banda caracteristică $\nu(\text{O-H})$ apare în spectrul complecșilor la 3454 cm^{-1} , respectiv 3453 cm^{-1} și 3359 cm^{-1} ceea ce indică prezența unor molecule de apă de cristalizare [53].

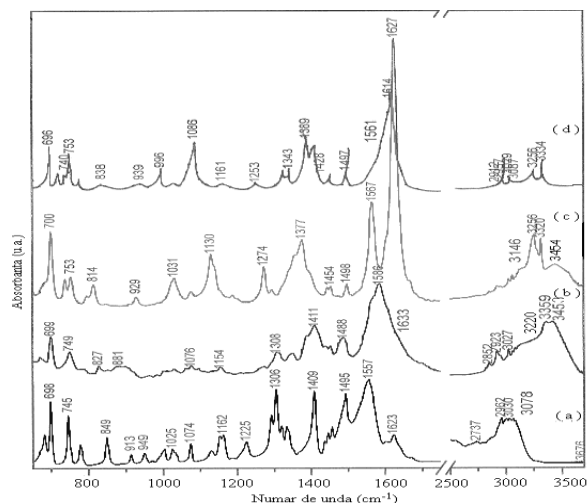


Fig.6.3 Spectrul FT-IR al **L** (a), **Cu-L**(b), **Co-L** (c) și **Zn-L** (d)

Tabel 6.3 Datele spectrale FT-IR (cm^{-1})

$\nu(N-H)$	$\nu(C=O)$	$\delta(N-H)$	$\nu(O-H)$	Compus
3078	1623	1557	-	L
3030				
3320	1629	1567	3454	Cu- L
3256				
3220	1633	1586	3453 3359	Co- L
3334	1614	1561	-	Zn- L
3256				

3.3.1.5 Spectroscopie UV-VIS

Fenilalanina face parte din categoria aminoacizilor aromatici, alături de treonină și tirozină, acești trei aminoacizi sunt responsabili de proprietățile fluorescente ale proteinelor. Aminoacizii aromatici absorb lumina în apropierea regiunii UV 250-300 nm astfel: treonina la 280 nm, tirozina la 274 nm și fenilalanina la 257 nm. Absorbivitatea molară a triptofanului

este de cinci ori mai mare decât a tirozinei și de 50 de ori mai mare decât cea a fenilalaninei [54].

Este important să menționăm că absorbția proteinelor, din intervalul 275-280 nm, se datorează aproape în întregime acestor trei aminoacizi. În cazul fenilalaninei din studiul nostru se observă că aceasta prezintă la 231 nm o bandă datorată tranziției $n \rightarrow \pi^*$ caracteristică grupării C=O. Aceasta este deplasată în spectrul complexilor la 225 nm (Cu-L), 235 nm (Co-L) respectiv la 220 nm (Zn-L) confirmând prezența ligandului în complex și natura covalentă a legăturii [55-57].

În spectrul UV (Fig.7.5.a) al fenilalaninei, banda caracteristică tranziției $\pi \rightarrow \pi^*$ apare la 260 nm și este deplasată în spectrul complexilor cu 15 nm (Cu-L), 20 nm (Co-L) respectiv 7 nm (Zn-L) și este atribuită sistemelor conjugate. În domeniul vizibil însă, spectrul complexului de cupru prezintă la 615 nm banda corespunzătoare tranziției ${}^2T_{2g} \rightarrow {}^2E_g$ specifică pentru complexii de cupru cu o simetrie tetragonală distorsionată datorată efectului Jahn-Teller. Complexul de cobalt prezintă în domeniul vizibil o bandă la 540 nm, care a fost atribuită tranziție ${}^4T_{1g}(P) \rightarrow {}^4T_{1g}(F)$ [58].

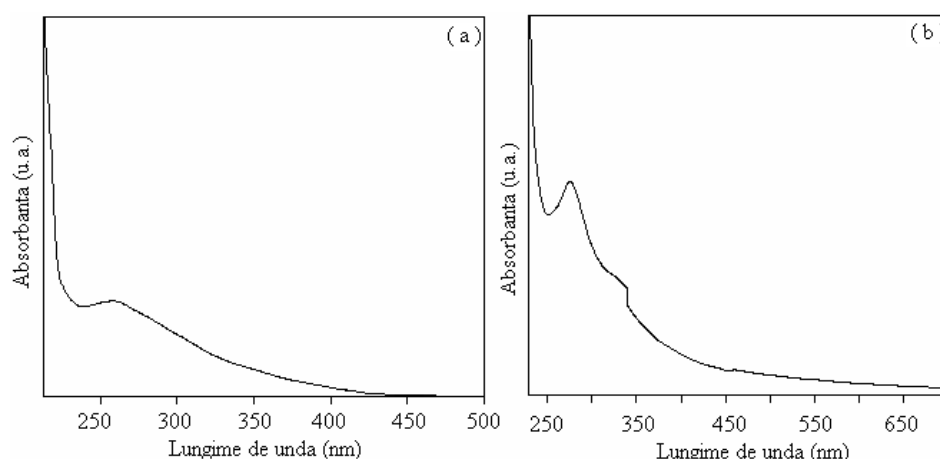


Fig. 7.3 Spectrul UV al L (a) și Cu-L(b)

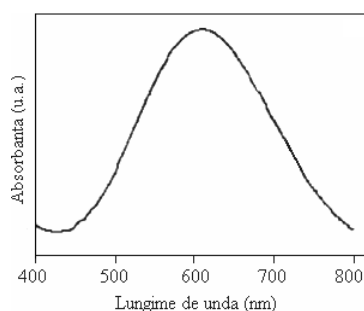


Fig. 8.3 Spectrul VIS al complexului Cu-L în DMF

3.3.1.6 Rezonanța electronică de spin

Spectrul complexului de cupru (Fig.9.3.a) realizat la temperatura camerei, pe pulberi policristaline, este tipic speciilor monomerice pseudotetraedrale. Valorile tensorilor giromagnetici : $g_{\parallel}= 2.197$, $g_{\perp}= 2.209$ corespund unui cromofor CuN_2O_2 .

Spectrul RES al soluției complexului de Cu-fenilalanina (DMF 10 mg complex/ 0.5 ml DMF) (Fig.9.5.b) conține liniile caracteristice structurii hiperfine izotrope ($g_0= 2.124$, $A_0= 82$ G) [46,55,56]. Spectrul soluției este izotrop, observându-se rezolvarea celor patru semnale corespunzătoare interacțiunii hiperfine între electronul paramagnetic și nucleul ionului metalic ($I_{Cu}= 3/2$). Valorile lui A_0 precum și forma specifică spectrelor corespund unei simetrii pseudotetraedrale în jurul ionului metalic [57].

În cazul complexului de cobalt am obținut spectrul RES la temperatura camerei, care relevă prezența unui compus monomeric ($g = 2.195$), cu simetrie octaedrică în jurul ionului de cobalt.

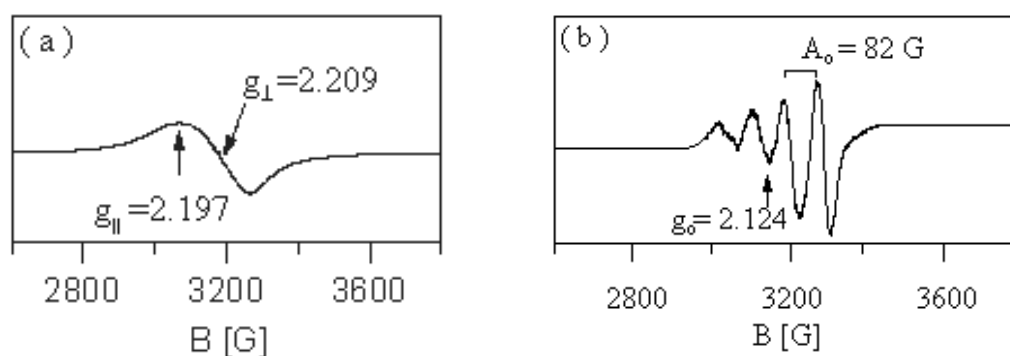


Fig.9.3 Spectrul RES al complexului 1 sub formă de pudră (a) și în DMF (b)

3.3.1.7 Structurile propuse

Au fost sintetizați trei complecși metalici în soluție apoasă $[Cu(L)_2] H_2O$, $[Cu(L)_2] 2H_2O$ și $[Cu(L)_2] H_2O$ și investigați prin metode fizico-chimice, spectroscopice și termice. Conform datelor obținute putem propune formulele acestor trei complecși, care sunt prezentați în figura 10.5. După cum se observă, complecșii de cupru și zinc prezintă o înconjurare pseudotetraedrică în jurul ionului metalic, iar complexul de cobalt are o simetrie octaedrală în jurul ionului de cobalt.

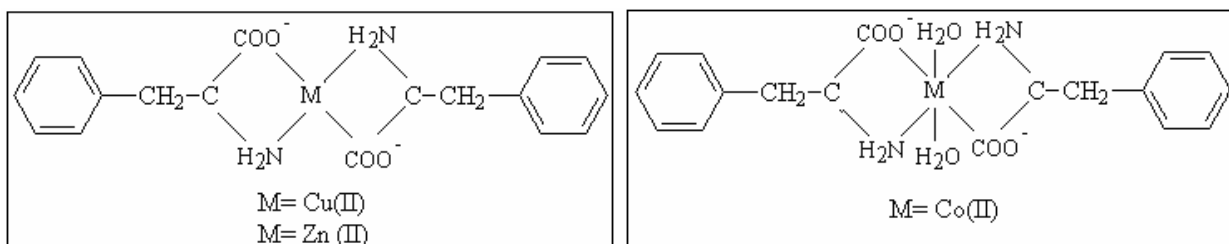


Fig. 10.3 Formulele structurale propuse pentru complexii de fenilalanină

3.4 Concluzii parțiale

În aceasta parte a lucrării s-a studiat capacitatea coordinativă aminoacizilor față de unii ioni ai metalelor tranziționale 3d. Au fost sintetizați noi complecși metalici: $[\text{Cu}(\text{L})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$, $[\text{Co}(\text{L})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Zn}(\text{L})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$ cu fenilalanină și caracterizați prin metode *fizico-chimice*: analiza elementală, spectroscopie de absorbție de masă, *termice*: analiza termogravimetrică și analiza calorimetrică diferențială și *spectroscopice*: spectroscopie IR, UV-VIS și RES.

Prepararea complecșilor metal-aminoacid 1:2 se bazează pe sinteza acestora într-un mediu alcalin și deprotonarea grupărilor carboxil din moleculele liganzilor pentru stabilirea legăturilor covalente și coordinative cu ionul metalic.

Un simplu anion de aminoacid reprezintă un potențial ligand bidentat, care poate coordina la un ion al unui metal de tranziție prin intermediul grupărilor carboxilice și aminice capabile să doneze electroni, formând o structură de inel heterociclic.

Analiza elementară și măsurătorile de absorbție atomică de masă confirmă stoichiometria rezultând complecși metalici de tipul $[\text{M}(\text{L})_2] \cdot \text{XH}_2\text{O}$ (M= Cu(II), Co(II) și Zn(II) iar X= 1 pentru Cu și Zn și X=2 pentru Co).

Comportarea termică a complecșilor studiați este asemănătoare, pornind de la scăderea în greutate prin eliminarea apei de cristalizare, descompunerea complexului în una sau mai multe etape și formarea oxidului metalic. Procesele care însoțesc pierderile de molecule de apă de cristalizare sau descompunerea complecșilor sunt endoterme, iar cele care apar la rearanjării în moleculă, formări de noi legături sau arderi, sunt efecte exoterme.

Prin compararea spectrelor IR ale ligandului cu ale compușilor sintetizați am stabilit modul de coordinare la centrul metalic, și anume prin atomul de azot din gruparea amino și prin atomul de oxigen al grupării carboxil. Deasemenea, analiza benzilor de vibrație de la aproximativ 3600 cm^{-1} a permis stabilirea numărului de molecule de apă care coordonează la

centrul metalic. Au fost identificate și atribuite principalele benzi de vibrație ale unor grupări moleculare semnificative. Spectrele IR arată caracterul bidentat al ligandului și permit stabilirea unei geometrii locale pseudotetraedrale în cazul ionilor de Cu(II) și Zn (II) și a uneia octaedrale în cazul complexilor de Co(II) sintetizați.

Conform datelor termice și a celor obținute din spectroscopiile în ultraviolet și vizibil putem afirma că simetria locală octaedrală în cazul ionilor de Co(II) se realizează prin coordinare în poziție axială a două molecule de apă.

Spectrele RES înregistrate pe pulberi ale complexilor confirmă legăturile covalente metal-ligand formate, geometria locală pseudotetraedrală în jurul ionului metalic de Cu(II) și Zn(II) și respectiv octaedrală pentru ionii de Co(II).

4. STUDII SPECTROSCOPICE ȘI TEORETICE ASUPRA MOLECULEI DE AMOXICILINĂ

În acest capitol sunt raportate studii experimentale și teoretice privind amoxicilina. Vibrațiile moleculare ale amoxicilinei au fost investigate prin FT-IR, FT-Raman și spectroscopii SERS. În paralel, calcule chimice cuantice bazate pe teoria densității funcționale (DFT) sunt utilizate pentru a determina caracteristicile geometrice, energetice și vibraționale ale moleculei, cu un accent deosebit pus pe interacțiunea și geometria adsorbției moleculei de pe un coloid de argint, la diferite valori ale pH-ului [66]. Spectrul SERS al amoxicilinei a fost înregistrat cu ajutorul unui laser de 532 nm și hidroxilamină redus de argint coloidal ca substrat SERS. Spectrele FT-IR și Raman de amoxicilină au fost atribuite pe baza calculelor DFT cu B3LYP hibrid de schimb de corespondență funcțională, împreună cu standardul 6-31G set de bază (d). Potențialul calculat molecular electrostatic a fost utilizat în combinație cu date SERS pentru a prezice adsorbția geometrică a moleculei pe Ag coloidal.

4.1. Introducere

Amoxicilina aparține unei clase de antibiotice numite peniciline. Amoxicilina este un bactericid cu spectru moderat, antibiotic β -lactam folosit pentru tratarea infecțiilor bacteriene cauzate de microorganisme sensibile.

Amoxicilina este eficientă împotriva multor bacterii diferite incluzând : H. influenzae, N. gonorrhoea, E. coli, Pneumococi, Streptococi și anumite tulpini de stafilococi.

Este aleasă cel mai des din clasa ei de antibiotice pentru că este mai bine absorbită, după administrarea orală, decât alte β -lactamice. Acționează prin inhibarea sintezei pe peretele celular bacterian. Pereții sunt necesari pentru a proteja bacteriile din mediul lor și de a păstra conținutul celulei bacteriene împreună. Bacteriile nu pot supraviețui fără peretele unei celule.

În studiile anterioare, care utilizează spectroscopia IR au fost studiate unele modele tehnologice de amoxicilină trihidrat, inclus în etil-, metil-, metil-și carboxi-metil hidroxietil celuloză. Interacțiuni s-au stabilit numai între amoxicilină trihidrat și etilceluloză. Spectrele de adsorbție IR sugerează un antibiotic cu legături de H cu grupurile hidroxil în molecula etilceluloză. Diferențele IR spectrale observate nu sunt datorate transformării polimorfice; acest lucru a fost dovedit prin difracție pe pulbere cu raze X. Un alt studiu s-a bazat pe pregătirea de complecși folosind două metode și caracterizează apoi interacțiunile dintre AMOX și originalul β -CD. Skimmer și spectroscopia în infraroșu (FTIR) au fost folosite pentru a caracteriza starea solidă a sistemului binar. Complexarea de AMOX cu β -CD a fost dovedită prin FTIR, RMN, DSC, și HPLC [68].

Studiul prezintă spectrele experimentale și simulate FT-IR și Raman a compusului investigat. Spectrul de frecvențe SERS al amoxicilinei a fost, de asemenea, înregistrat cu ajutorul unui laser de 532 nm și hidroxilamină pe argint coloidal ca substrat SERS.

Spectrele IR și Raman de amoxicilină au fost atribuite pe baza calculelor DFT cu B3LYP hibrid de schimb de corespondență funcțională, împreună cu standardul 6-31G set de bază (d). Potențialul electrostatic molecular calculat a fost utilizat în combinație cu date SERS pentru a prezice geometria adsorbției moleculare pe Ag coloidal. Deplasarea benzilor SERS este însoțită de o schimbare importantă în intensitățile lor relative.

4.2 Metode computaționale de investigare a structurii moleculare

Spectrele FT-IR ale pudrei de amoxicilină au fost înregistrate la temperatura camerei cu ajutorul unui spectrometru FTIR Equinox 55 (Bruker Optik GmbH, Ettlingen, Germania), spectrometru echipat cu un detector de DTGS și o configurare ATR cu cristale de ZnSe.

Spectrele FT-Raman au fost înregistrate într-o geometrie backscattering cu un accesoriu Bruker FRA 106/S Raman echipat cu un detector de Ge răcit cu azot.

Laserul 1064 nm Nd: YAG a fost folosit ca sursă de excitare și puterea laser măsurată la poziția eșantionului a fost de 300 mW. Toate spectrele au fost înregistrate cu o rezoluție de 4 cm^{-1} prin adăugarea a 32 scanări.

Spectrele SERS au fost înregistrate folosind un spectrometru DeltaNu Advantage (DeltaNu, Laramie, WY), echipat cu o frecvență dublă care emite cu laser NdYAG la 532 nm. Puterea laserului a fost de 40 MW și rezoluția spectrală ~ 10 cm

Toate substanțele utilizate au fost de calitate analitică. Substratul de argint coloidal SERS a fost pregătit prin reducerea Ag + cu hidroxilamină [69]. Pe scurt, 0.017 g azotat de argint au fost diluate în 90 ml de apă deionizată. Într-un recipient separat, 0.017 g de clorhidrat de hidroxilamină a fost diluat în 10 ml apă, apoi s-au adăugat 0.250 ml de soluție de hidroxid de sodiu, 2 mol / l (v). Soluția hidroxilamină / hidroxid de sodiu a fost apoi rapid adăugată la soluția de azotat de argint, amestecând viguros. După câteva secunde o soluție coloidală de culoare gri-marou s-a format și a fost amestecată timp de încă 10 minute. Valoarea pH-ului coloidului de argint, măsurată imediat după preparare, s-a dovedit a fi 8.5.

Optimizarea geometriei moleculare, potențialul electrostatic molecular (MEP) și calculele spectrelor vibraționale au fost efectuate cu pachetul de programe Gaussian 03W [70] folosind metode DFT cu hibridul B3LYP și chitul standard 6-31G. Nu a fost aplicată nici o restricție de simetrie în timpul optimizării geometriei.

Frecvențele vibraționale au fost calculate la o geometrie optimizată pentru a se asigura că nu s-au obținut frecvențe imaginare confirmând că acesta corespunde unui minim local pe suprafața de potențial energetic.

Atribuirea frecvențelor experimentale se bazează pe benziile de frecvență observate și modelul de intensitate a spectrului Raman și confirmate prin stabilirea unei corelații unu la unu între frecvențele observate și cele calculate teoretic.

Activitățile calculate Raman (S_i) au fost convertite la intensitățile relative Raman (II), folosind următoarea relație [73-75]:

$$I_i = \frac{f(\nu_0 - \nu_i)^4 S_i}{\nu_i \left[1 - \exp\left(-\frac{hc\nu_i}{kT}\right) \right]}$$

Unde ν_0 este numărul de undă de excitație

Pentru parcela de spectre Raman simulate au fost folosite forme pure de Lorentzian cu întreaga lățime și înălțimea la jumătate (FWHM) de 15 cm^{-1} .

Ultima coloană din tabelul 1 conține propunerile care contribuie cel mai mult la diferite moduri normale în conformitate cu metoda B3LYP cuplate cu setul de baza 6-31G (d).

Numerele calculate au fost scalate de 0.9614 așa cum au propus Scott și Radom [76].

Pentru ajutor în modul de atribuire ne-am bazat pe o comparație directă între spectrele experimentale și cele calculate prin luarea în considerare atât a secvenței de frecvențe și intensitatea modelului și de comparații cu spectrele vibraționale de compuși similari [77-80].

4.3 Rezultate și discuții

După optimizarea geometrică, au fost calculate frecvențele vibraționale pentru amoxicilină. Nici o frecvență imaginară nu a fost obținută pentru geometria optimizată dată în fig 1. și astfel, reprezintă un minim adevărat pe suprafața de energie potențială.

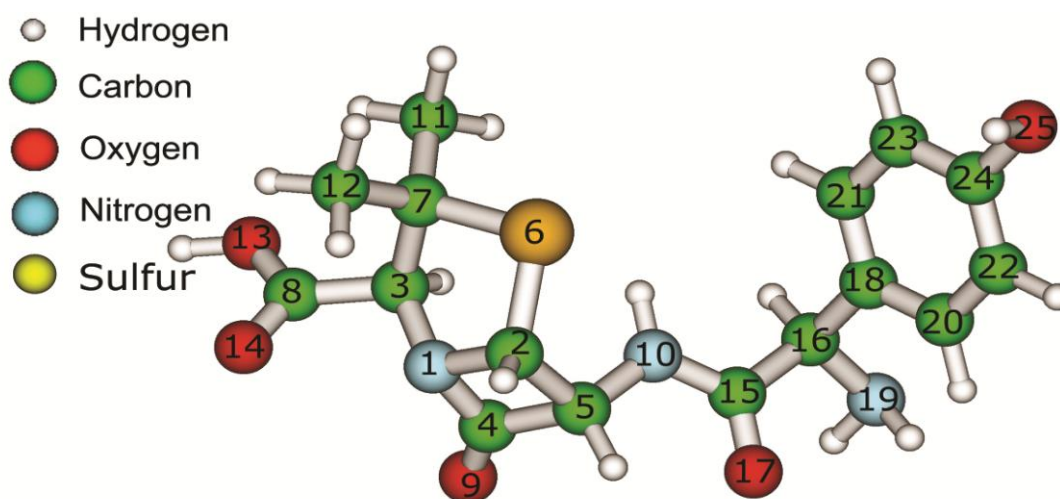


Fig.1. Structura moleculară optimizată și sistemul de numerotare al atomilor de amoxicilină

În Fig.2 sunt date spectrele experimentale și simulate FTIR / ATR ; în Fig.3 sunt date spectrele experimentale și simulate FT-Raman și SERS, în tabelul 1 sunt selectate benzi experimentale SERS, FT-Raman și sunt calculate numerele de undă ale amoxicilinei , iar în tabelul 2 sunt benzi experimentale selectionate FTIR/ATR și sunt calculate numerele de undă ale amoxicilinei.

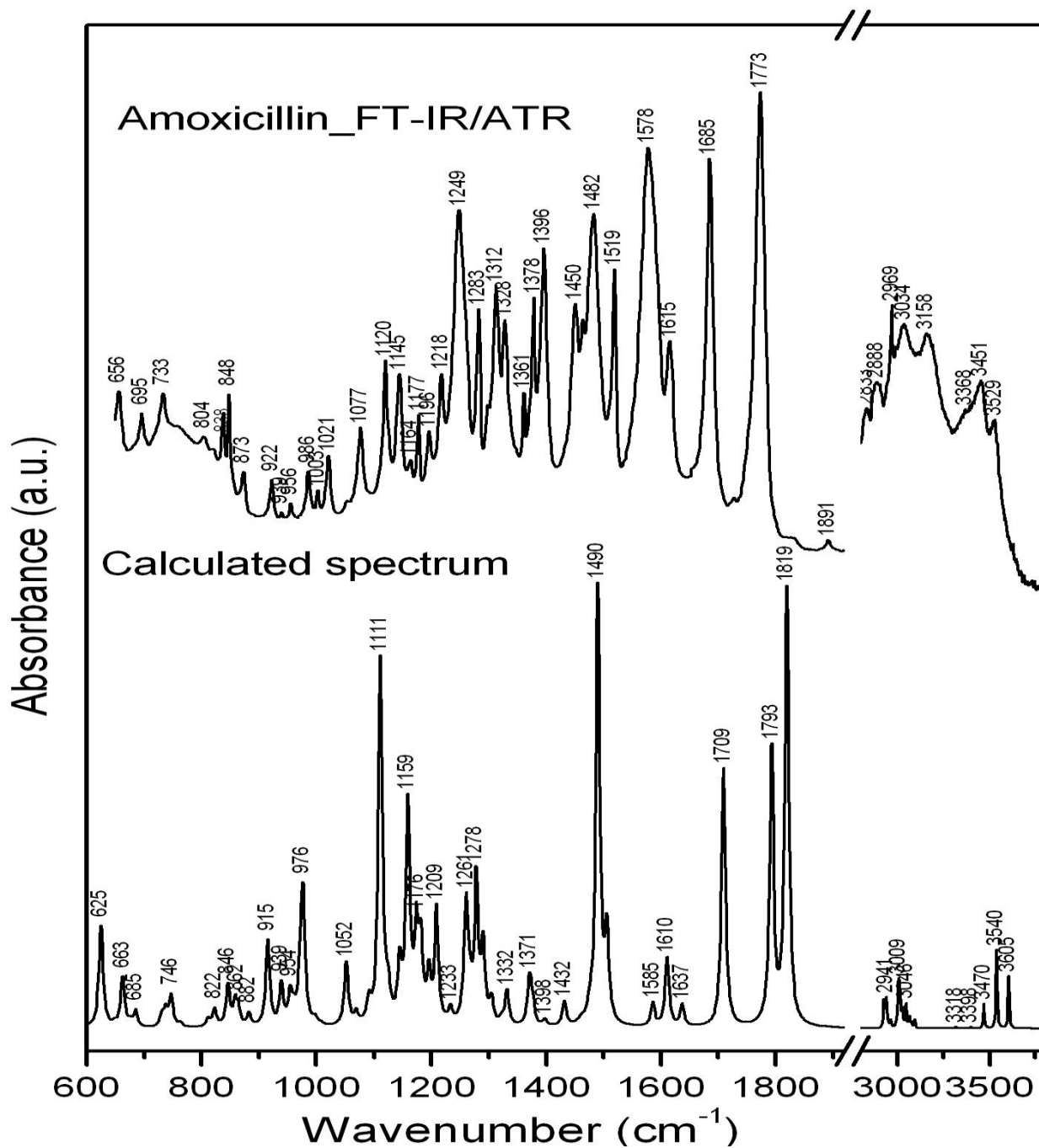


Fig.2. Spectre FTIR experimentale și calculate ale amoxicilinei.

După cum s-a văzut în Fig.2, principalele caracteristici ale spectrelor experimentale IR sunt foarte bine prezise de calcule.

Tabel 2. Benzi experimentale selecționate FTIR/ATR și numere de undă calculate ale amoxicilinei.

Experimental wavenumbers (cm ⁻¹) 1)	Calculated wavenumbers (cm ⁻¹) 1)	Band assignment
FTIR/ATR	B3LYP	
3529	3540	v(O13H)
3451	3470	v(N10H)
3368	3398	v _{as} (N19H ₂)
3034	3046	v _{as} (C21H,C23H)
2969	2963	v(C3H)
1773	1793	v(C8O14)+δ(O13H)
1685	1709	v(C15O17)+δ(N10H)
1615	1610	v(CC ring2)+δ(CH ring2)
1578	1585	v(CC ring2)+δ(CH ring2)+δ(O25H)
1482	1490	v(N10C15)+δ(N10H)+δ(C5H)
1450	1432	v(CC ring2)+δ(O25H)+δ(C16H)
1396	1398	δ _s (CH ₃)
1378	1371	δ(C3H)+δ(C8O ₂ H)+v(C3C8)
1328	1332	v(CC ring2)+δ(CH ring2)+δ(O25H)
1283	1278	v(N1C3)+δ(N10H)+δ(N19H ₂)+δ(CH)+δ(O13H)

1249	1233	$\delta(\text{CH})$
1218	1209	$\nu(\text{C5C2,C5C4,C3N1})+\delta(\text{N10H})+\delta(\text{CH})$
1177	1176	$\delta(\text{N10H,N19H}_2)+\delta(\text{CH})$
1164	1159	$\delta(\text{CH ring2})+\delta(\text{O25H})+\delta(\text{CH})+\delta(\text{N19H}_2)$
1120	1111	$\delta(\text{O13H})+\delta(\text{CH})+\delta(\text{C8O}_2\text{H})+\nu(\text{O13C8})$
1021	1052	$\nu(\text{CC,CN ring1})+\nu(\text{N1C4,C2N1})+\delta(\text{CH})+$ $\delta(\text{N19H}_2)+\delta(\text{C12H}_3)$
986	976	$\delta(\text{N19H}_2)+\text{op. bending CH ring2}$
956	954	$\delta(\text{CH})+\nu(\text{C16NH}_2)+\delta(\text{C15C16NH}_2)$
939	939	$\delta(\text{C8C3HN1})+\nu(\text{C8C3H,C2C5})+\delta(\text{CH})+$ $\delta(\text{O13H})+\delta(\text{N19H}_2)+\delta(\text{C12H}_3)$
922	915	$\nu(\text{C15C16H,C2C5})+\delta(\text{N19H}_2)+\delta(\text{C12H}_3)$
873	862	ring2 breathing+ $\delta(\text{CH}$ ring2)+ $\delta(\text{CH})+\delta(\text{N19H}_2)$
848	846	op. bending CH ring2
834	822	op. bending CH ring2
733	746	$\delta(\text{O13H})+\delta(\text{C8O}_2\text{H})+\rho(\text{CH}_3)+\nu(\text{C7C3})$
656	663	$\delta(\text{O13H})$

ν - stretch, ν_s - symmetric stretch, ν_{as} - asymmetric stretch, δ - in plane bending, ρ - rocking,

γ -out-of-plane bending, def.-deformation, ip.-in plane, op.-out of plane

ring1: pyrrole ring(N1-C2-S6-C7-C3); ring2: benzene ring(C18-C20-C21-C22-C23-C24)

Fig3. Arată spectre FT-Raman, DFT Raman și SERS calculate ale amoxicilinei. După cum se poate observa spectrul teoretic calculat reproduce bine spectrul FT-Raman.

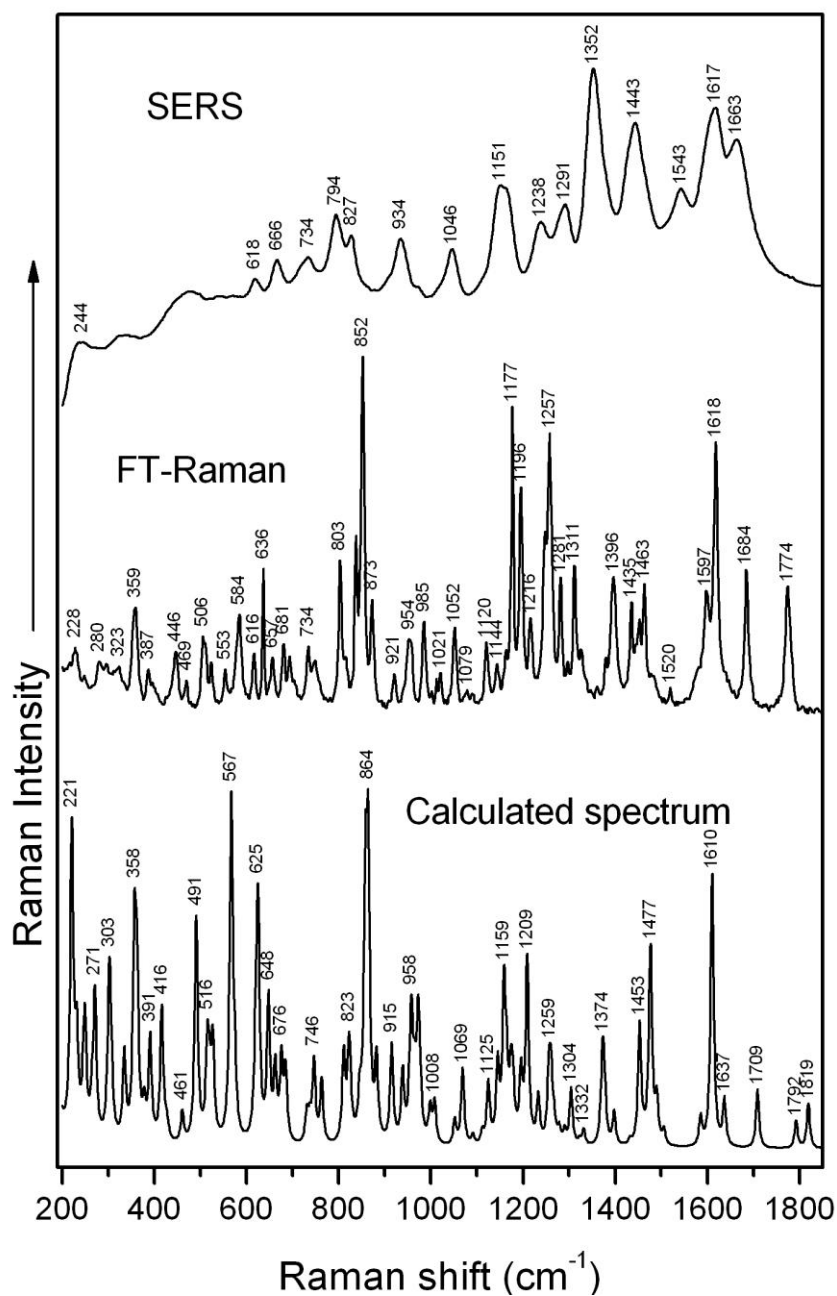


Fig.3. Spectre FT-Raman și SERS experimentale și calculate ale amoxicilinei

FT-Raman: Excitation -1064nm, P=300mW

SERS: Excitation – 532nm, P=40mW

Table 1. Selected experimental SERS, FT-Raman bands and calculated wavenumbers of amoxicillin.

Experimental wavenumbers (cm ⁻¹)		Calculated wavenumbers (cm ⁻¹)	Band assignment
SERS	FT-Raman	B3LYP	
244	228	221	$\rho(\text{NH}_2)+\rho(\text{CH}_3)$
	280	271	$\rho(\text{CNH}_2)+$ op. Ring2 deformation
	323	303	$\rho(\text{CCH}_3)+\delta(\text{CCH}_3)$
	359	358	$\rho(\text{CCH}_3)+\delta(\text{CCH}_3)$
	387	391	op. ring2, ring1 deformation+op. ring2, ring1 bending
	446	416	ip. ring1 deformation+ $\delta(\text{COH})$
	469	461	ip. ring1 deformation+ $\delta(\text{NH})+\delta(\text{CCH}_3)$
	506	491	op. ring2 bending+ $\delta(\text{NH})$
	553	516	op. ring2, ring1 deformation+op. ring2, ring1 bending
	584	567	$\delta(\text{O13H})+\nu(\text{C7S6})+\delta(\text{C7CH}_3)+\delta(\text{CH}_3)$
618	616	625	$\delta(\text{O13H})+\delta(\text{CH})+\delta(\text{CH}_3)$
666	636	648	ip. ring2 deformation+ring2 breathing
734	734	746	$\delta(\text{O13H})+\delta(\text{C8O}_2\text{H})+\rho(\text{CH}_3)+\nu(\text{C7C3})$
794	803	811	ip. Deformation
827	838	823	op. bending ring2+ $\delta(\text{CH ring2})$

	852	864	ring2 breathing+ δ (CH ring2)+ δ (CH)+ δ (NH ₂)
934	921	915	ρ (NH ₂)+ op. bending ring1+ δ (CH)+ ν (C8C3)+ δ (OH)
	954	958	ρ (CH ₃)+op. bending CH ring2
	985	972	δ (CH)+ ν (C16NH ₂)+ δ (C15C16NH ₂)
	1021	1008	ρ (CH ₃)
1046	1052	1069	ν (C16NH ₂)+ δ (NH ₂)+ δ (CH)
	1120	1125	δ (C12C7C11)+ ρ (CH ₃)
1151	1177	1159	δ (CH)+ δ (OH)+ δ (CH ring2)+ ν (CC ring2)
	1196	1209	δ (CH)+ δ (NH)+ ν (C5N10)
1238	1257	1259	ν (C24OH)+ δ (CH ring2)
	1311	1304	δ (CH)+ δ (NH)+ δ (CH ring2)+ip. ring2 deformation
1352	1396	1374	δ (CH)+ ρ (NH ₂)+ ρ (NH ₂ CH)
1443	1435	1453	δ_{as} (CH ₃)
	1463	1477	δ_{as} (CH ₃)
1617	1618	1610	ν (CC ring2)+ δ (CH ring2)

ν - stretch, ν_s - symmetric stretch, ν_{as} - asymmetric stretch, δ - in plane bending, ρ - rocking, γ -out-of-plane bending, def.-deformation, ip.-in plane, op.-out of plane

ring1: pyrrole ring(N1-C2-S6-C7-C3); ring2: benzene ring(C18-C20-C21-C22-C23-C24)

Tabelul 1. Numere de undă experimentale selectate și numere de undă calculate B3LYP/6-31G(d) (cm⁻¹) ale amoxicilinei.

Tabelul 1 prezintă numere de undă calculate și alocarea acestora pe baza calculelor DFT. Benzile FT-Raman și SERS au fost corelate vizual cu spectrele calculate luând în considerare atât valorile numerelor de undă cât și intensitatea relativă, prin urmare atribuirea spectrelor FT-Raman și SERS a fost efectuată.

Adsorbția amoxicilinei pe suprafața de argint

În conformitate cu normele suprafeței de selecție [81,82], modurile normale cu o schimbare în polarizabilitatea componentului perpendicular pe suprafață sunt îmbunătățite.

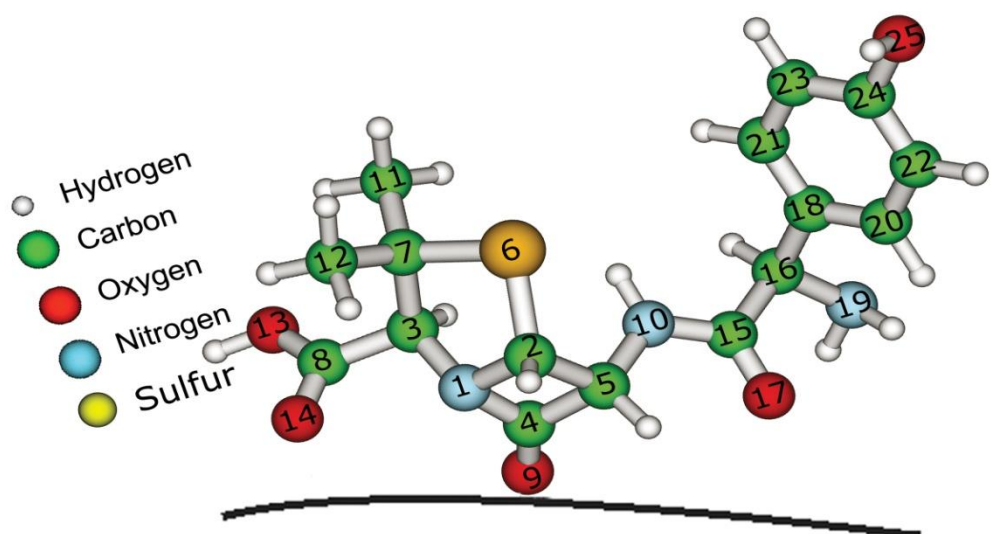
Teoretic, interacțiunea amoxicilinei cu suprafața de argint poate fi stabilită prin, împrumutul de perechi de electroni din atomii de O și N, atomii S sau prin electronii π ai inelelor.

Adsorbția de amoxicilină pe suprafața de argint se deduce pe baza hărții moleculare electrostatice și a mai multor benzi de marcaj.

După cum se poate observa în figura 4 cea mai mare densitate de electroni este situată pe atomii de oxigen astfel adsorbția moleculei ar trebui să aibă loc prin intermediul chemisorbției de atomi de oxigen.

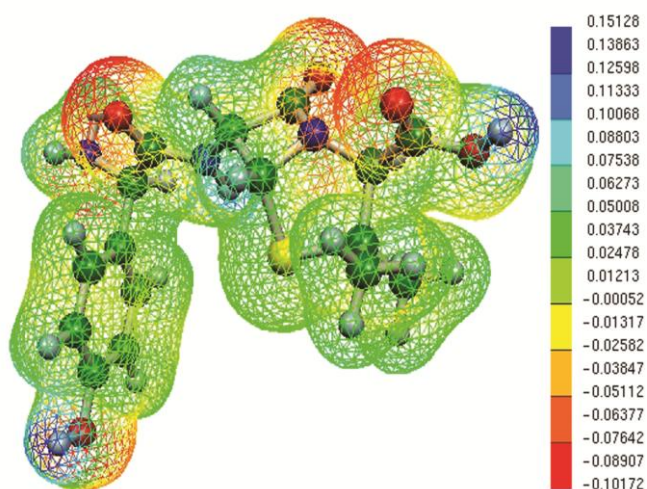
Benzile de marcaj ale inelului de benzen (inelul 2) au fost identificate la 852, 1177 și 1257 cm^{-1} . Aceste benzi sunt mai puțin reprezentate în spectrele SERS astfel inelul de benzen nu se află în imediata apropiere a suprafeței de argint. Benzi intense în spectrele SERS sunt observate la 1352 și la 1443 cm^{-1} datorită legăturilor C-H de asemenea la 1663 datorită vibrației de întindere a legăturii C=O.

Astfel s-a dedus adsorbția moleculei precum e prezentat în figura de mai jos:



Potențial electrostatic molecular

Potențialele moleculare electrostatice au fost folosite pentru interpretarea și estimarea comportamentului reactiv de o mare varietate de sisteme chimice în reacții atât electrophile cât și nucleofile, studiul proceselor biologice de recunoaștere și interacțiuni ale hidrogenului. [83,84]. Pentru a prezice locurile reactive ale atacurilor electrophile și nucleofile ale moleculei investigate, MEP a fost calculat cu B3LYP/6-31G(d) geometrie optimizată. Figura 4 prezintă harta calculată 3d a conturului electrostatic potențial de amoxicilină în [au], densitatea de electroni în suprafață fiind 0.02 a.u.



4.4 Concluzii parțiale

Calculul DFT a fost realizat pentru optimizarea geometriei și calculul de frecvențe vibraționale al amoxicilinei.

Spectre FT-Raman și FTIR ale amoxicilinei au fost înregistrate și alocarea numerelor vibraționale a fost realizată cu ajutorul calculelor DFT.

Din regulile SERS de selecție câteva benzi marker și harta potențialului electrostatic geometria adsorbției amoxicilinei pe suprafața de argint a fost dedusă.

CONCLUZII

Au fost sintetizați trei clase de complecși metalici. Rezultatele obținute în urma caracterizării structurale a acestor complecși au fost prezentate la diferite conferințe naționale și au fost concretizate prin publicarea de articole.

Scopul sintetizării acestor compuși este investigarea ulterioară a capacității lor antibacteriene, antifungice, anticancerigene și de înlăturare a rezidurilor din apă.

Caracterizarea structurală a compușilor cu liganzi de interes biomedical s-a realizat prin tehnicile accesibile, respectiv analiza chimică elementală, absorbție atomică de masă, măsuratori termice, spectroscopie în infraroșu cu Transformata Fourier, spectroscopie în ultraviolet și vizibil, precum și rezonanță electronică de spin.

Ținând cont de bioaplicabilitatea lor au fost sintetizați și caracterizați trei complecși metalici: $[\text{Cu}(\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_7\text{O}_4)_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, $[\text{Co}(\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_7\text{O}_4)_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ și $[\text{Ni}(\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_7\text{O}_4)_2] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ având ca și ligand un azoderivat de tipul $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_7\text{O}_4$.

Analiza chimică elementală și analiza termică confirmă stoichiometria complecșilor și rația molară de $\text{M}:\text{L}:\text{H}_2\text{O} = 1:2:8$.

Spectroscopiile în infraroșu, ultraviolet și vizibil indică faptul că ligandul organic acționează ca și un compus bidentat, ce implică în coordinarea cu ionul metalic un atom de azot provenit de la gruparea azo și un atom de oxigen legat de inelul pirazolic.

Spectrele de rezonanță electronică de spin confirmă simetria pseudotetraedrală în jurul ionilor metalici pentru prima clasă de complecși.

Au fost sintetizați și caracterizați din punct de vedere fizico-chimic și spectroscopic opt noi complecși metalici de tip $[\text{M}(\text{HL})_n] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ unde $\text{HL} = [\text{C}_2\text{HN}_2\text{S}_3\text{CH}_2\text{COO}]^-$ și $\text{M} = \text{Mn}^{2+}$, Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} și Ag^+

Microanaliza confirmă raportul stoichiometric și puritatea analitică a tuturor celor opt complecși nou sintetizați.

Spectroscopia FT-IR confirmă caracterul bidentat al ligandului și permite stabilirea modului de coordinare la centrul metalic. Astfel ligandul se comportă ca și carboxilați monoanionici, ce conțin o grupare tioamidică protonată în forma sa tionică.

Spectrele electronice și cele de rezonanță electronică de spin ale complecșilor, măsurate la temperatura camerei, confirmă legăturile covalente metal-ligand formate, simetria octaedrală sau pseudo-octaedrală în jurul ionilor metalici. Valorile tensorilor giromagnetici corespund unor cromofori de tip MO_6 având contribuții din partea atomilor de oxigen proveniți de la grupările carboxilice și de la moleculele de apă.

Metodele spectroscopice nu pot oferi suficiente informații despre modul în care se leagă metalele de proteine, înțelegând natura legăturii metalelor de aminoacizi putem obține informații extrem de utile despre coordinarea proteinelor cu metalele.

În acest context am sintetizat și caracterizat din punct de vedere fizico-chimic, termic și spectroscopic noi complecși metalici în soluții apoase de tipul: $\text{Cu(L)}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{Co(L)}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și $\text{Zn(L)}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, unde L = fenilalanină.

Analiza chimică elementală, absorbția atomică de masă și analiza termică confirmă stoichiometria complecșilor și rația molară de $\text{M:L:H}_2\text{O} = 1:2:1$ pentru complecșii de cupru și zinc și $\text{M:L:H}_2\text{O} = 1:2:2$ pentru cei de cobalt.

Compararea spectrelor FT-IR ale aminoacizilor și ale compușilor sintetizați au permis stabilirea modului de coordinare la centrul metalic prin intermediul atomului de azot din gruparea amino și prin atomul de oxigen al grupării carboxil. De asemenea, analiza benzilor de vibrație de la aproximativ 3600 cm^{-1} a permis stabilirea numărului de molecule de apă care coordonează la centrul metalic. Au fost identificate și atribuite principalele benzi de vibrație ale unor grupări moleculare semnificative. Spectrele IR arată caracterul bidentat al liganzilor și permit stabilirea unei geometrii locale pseudotetraedrale în cazul ionilor de Cu(II) și Zn(II) și a uneia octaedrale în cazul complecșilor de Co(II) . Simetria locală octaedrală în cazul ionilor de Co(II) se realizează prin coordinare în poziție axială a două molecule de apă.

Spectrele electronice și cele de rezonanță electronică de spin ale complecșilor, sub formă de pulbere măsurate la temperatura camerei, confirmă legăturile covalente metal-ligand formate, simetria pseudotetraedrală în jurul ionilor de cupru și zinc și înconjurarea octaedrală pentru cel de cobalt.

Rezultatele obținute până în prezent îndreptătesc continuarea cercetărilor, atât în ceea ce privește rezolvarea structurilor în stare solidă și în soluție, cât și în ceea ce privește activitatea biologică a acestor compuși.

MULȚUMIRI

Sunt mulți cei cărora vreau să le mulțumesc - oameni care m-au ajutat concret sau cu o vorbă de încurajare, pentru a duce la bun sfârșit această lucrare. Tuturor le sunt recunoscătoare.

În primul rând vreau să mulțumesc d-lui Prof. Dr. David Leontin, care m-a susținut permanent și a crezut în mine și în această lucrare. Fără să-l am alături, mi-ar fi fost mult mai greu.

Sunt recunoscătoare colectivului catedrei de Fizică Biomedicală și în special domnului decan Prof. Dr. Onuc Cozar, pentru că mi-a acordat încrederea și toată susținerea necesară pentru a finaliza această teză.

Am avut o colaborare foarte bună cu membrii acestei catedre care m-au susținut și m-au ajutat în permanență cu sfaturi și sprijin în redactarea articolelor.

Mulțumesc domnului Prof. Dr. Chis Vasile, doamnei Conf. Dr. Simona Pînzaru, domnului Lect. Dr. Nicolae Leopold, domnului fiz. Dr. Szabo Laci pentru ajutorul constant și prompt de fiecare dată când aveam nevoie.

Toată aprecierea mea și gânduri bune pentru părinții mei, Bebu Mihai și Bebu Dorina, pentru susținerea și înțelegerea manifestată cu generozitate în acești ani.

Nu în ultimul rând vreau să mulțumesc programului doctoral : “Prin Știința spre Societate”, contract POSDRU 6/1.5/S/3 pentru suportul financiar acordat în finalizarea acestei teze de doctorat.

Această lucrare este pentru toți cei care de-a lungul timpului mi-au pus întrebări, mi-au cerut ajutorul, m-au lăudat sau m-au criticat, stimulându-mă în acest fel să mă pregătesc permanent.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

- [37] Siebrand W, Zgierski M. *Resonance Raman Spectroscopy—A Key to Vibronic Coupling*, in *Excited State*, Lim EC Ed., Academic Press, New York, 1979; **1**: 1-36.
- [38] Myers AB, Mathies RA. *Resonance Raman Intensities: A Probe of Excited State Structure and Dynamics*, in *Biological Applications of Raman Spectroscopy*, Spiro TG Ed., Wiley, New York, 1988; **1**: 1-58 .
- [39] Fleischmann M, Hendra PJ, McQuillan AJ. *Chem. Phys. Lett.* 1974; **26**: 163.
- [40] Jeanmaire DL, Van Duyne RP. *J. Electroanal. Chem.* 1977; **84**: 1.
- [41] Albrecht MG, Creighton JA. *J. Am. Chem. Soc.* 1977; **99**: 5215.
- [42] Van Duyne RP. in *Chemical and Biochemical Applications of Laser*, Moore CB Ed., Academic Press, New York, 1979; **4**.
- [43] Furtak TE, Reyes J. *Surf. Sci.* 1980; **93**: 351.
- [44] Lee TK, Birman JL. *J. Raman Spectrosc.* 1981; **10**: 140.
- [45] Krasser W, Renaouprez AJ. *J. Raman Spectrosc.* 1981; **11**: 425.
- [46] Loo BH. *J. Chem. Phys.* 1981; **75**: 5955.
- [47] Creighton JA, Eadon DG. *J. Chem. Soc, Faraday Trans.* 1991; **87**: 3881.
- [48] Kerker M Ed., *Selected Papers on Surface Enhanced Raman Scattering*, SPIE Milestone Series, Washington, 1990; **MS 10**.
- [49] Sequaris JM, Koglin E. *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 1985; **321**: 758.
- [50] Torres EL, Winefordner JD. *Anal. Chem.* 1987; **59**: 1626.
- [51] Munro CH, Smith WE, Armstrong DR, White PC. *J. Phys. Chem.* 1995; **99**: 879.
- [52] Moskovits M. *J. Chem. Phys.* 1982; **77**: 4408.
- [53] Moskovits M, Suh JS. *J. Phys. Chem.* 1984; **88**: 1293.
- [54] Gao X, Davies JP, Weaver MJ. *J. Phys. Chem.* 1990; **94**: 6858.
- [55] Cooney RP, Mahoney MR, McQuillan AJ. *Advances in Infrared and Raman spectroscopy*, Clark RJH& Hester RE Eds., Heyden, Philadelphia, 1982; **9**: 188.
- [56] Champion A, Mullins DR. *Chem. Phys. Lett.* 1983; **94**: 576.
- [57] Champion A, Mullins DR. *Surf. Sci.* 1985; **158**: 263
- [58] Seki H. *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.* 1986; **39**: 289.
- [59] Mrozek MF, Wasileski SA, Weaver MJ. *J. Am. Chem. Soc.* 2001; **123**: 12817.
- [60] Chang RK. *Ber. Bunsen. Ges. Phys. Chem.* 1987; **91**: 296.

- [61] Creighton JA. *Spectroscopy of surface*, Clark RJH&Hester RE Eds., Wiley, New York, 1988; 37.
- [62] Murray CA. *Surface Enhanced Raman Scattering*, Chang RK&Furtak TE Eds., Plenum, New York, 1982; 203.
- [63] Cotton TM, Uphaus RA, M \square ius D. *J. Phys. Chem.* 1986; **90**: 6071.
- [64] Chang RK, Laube BL. *CRC Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* 1984; **12**: 1.
- [65] Barz F, Gordon II JG, Philpott MR, Weaver MJ. *Chem. Phys. Lett.* 1982; **91**: 291
- [66] A. Pîrnău, V. Chiş, O. Oniga, N. Leopold, L. Szabo, M. Baias, O. Cozar, *Vib. Spectrosc.*, 48 (2008) 289–296
- [67] L.M. Gasheva, G. Kalinkova, E. Minkov and V. Kretev, *Journal of Molecular Structure*, Volume 115, March 1984
- [68] Catherine Bisson-Boutelliez, Stephane Fontanay, Chantal Finance and Francine Kedzierewicz, *Preparation and Physicochemical Characterization of Amoxicillin β -cyclodextrin Complexes*, *AAPS PharmSciTech* 2010;11(2):574-81.
- [69] N. Leopold, B. Lendl, *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 5723.
- [70] Gaussian 03, Revision E.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- [71] **Bebu Andreea - Mihaela**, Cozar Ionut - Bogdan, Mogonea Lavinia, Cozma Dorin, Nagy Csilla, David Ioan Leontin, *Spectroscopic Studies of some Metallic Complexes with Phenylalanine as Ligand*, *STUDIA UNIVERSITATIS BABES BOLYAI. PHYSICA*, Categ CNCSIS B+, 2, 2009, P.23 - 33V.

[72] Szabo Laszlo, **Bebu Andreea - Mihaela**, Leopold Nicolae, Berindean Catalin - Vasile, David Ioan Leontin, *IR, Raman, SERS and DFT study of amoxicillin*, Science_Citation_Expanded, JOURNAL OF MOLECULAR STRUCTURE, 993, 2011, P.52 - 56N.

[73] L. Mogonea, A. Stanila, C. Cosma, Cs. Nagy, **A. Bebu**, L. David
Synthesis and spectral studies of some transition metal complexes with methionine as ligand

[74] D. Rusu^a, O. Baban^b, **A. Bebu**^c, M. Rusu^b, D. Ilesan^c, L. David^c
Spectroscopic studies of Polyoxotungstates with dinuclear clusters