



UNIVERSITATEA BABEŞ-BOLYAI

FACULTATEA DE FIZICĂ

Udrescu Mariana

**Studii structurale ale unor complecşi metalici cu
aminoacizi şi ale unor biomarkeri utilizaţi în diagnostic**

Rezumatul Tezei de Doctorat

Conducător ştiinţific
Prof. dr. David Leontin

Cluj-Napoca

2012

Cuprins

INTRODUCERE	3
CAPITOLUL I.	
1. Aminoacizi	5
2. Rolul biologic al metalelor tranziționale în organism	8
3. Biomarkeri	23
CAPITOLUL II. Metode experimentale de analiză structurală	
1. GC-MS	26
2. Spectroscopie FT-IR	36
3. Spectroscopia UV-VIS	46
4. Spectroscopia RES	54
5. Spectroscopie de absorbție atomică	65
6. Analiză termică	67
CAPITOLUL III. Studii structurale; Rezultate obținute	
A. Studii spectroscopice a unor compuși metalici tranziționali cu metionină ca și ligand	76
B. Investigații preliminare a meteoritului de la Mociu prin raportul izotopic al plumbului, folosind spectrometrul de masă cu plasmă, cu cuadrupol, cuplat inductiv	84
C. Studii spectroscopice ale complecșilor de mangan, cupru și paladiu cu diclofenacul ca ligand	90
D. Diagnoză și control utilizând biomarkeri	98
CAPITOLUL IV. Concluzii	107

Cuvinte cheie: aminoacizi, biomarkeri, compuși metalici, GC-MS, UV-VIS

INTRODUCERE

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

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.

În ultimii ani se acordă o atenție sporită studiilor realizate pe complexarea ionilor metalelor de tranziție cu diferite biomolecule.

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 enzimatic.

Complecșii aminoacizilor cu metalele sunt asemănători ca structură cu cei naturali, prezenți în organism, iar eliberarea microelementelor se face exact la celula sau țesutul care au nevoie de aceștia.

Aminoacizii și derivații lor suferă un număr mare de reacții (condensare, formare de legături peptidice, reacții redox, etc.) care sunt catalizate prin coordinarea unui centru metalic extern. În consecință aminoacizii pot forma cu ușurință complecși chelatici datorită grupurilor COOH și NH₂, capabile să doneze electroni unor ioni metalici și să formeze legături covalente coordinative. Scopul obținerii acestor chelați între metale și aminoacizi este acela de a mări biodisponibilitatea oligoelementelor.

În literatură sunt consemnate diferite aplicații ale complecșilor metalelor cu aminoacizi:

- în *medicină* ca și complecși cu activitate antibacteriană (Cu-alanina, arginina, histidina, lizina) asupra bacteriilor de tipul *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* și *Escherichia coli*, în reglarea secreției gastrice (Cu- triptofan, fenilalanina), ca antitumorali (Cu-leucina, tirozina, histidina);
- în *farmacie* ca medicamente bacteriostatice (Co-cisteina, metionina), ca inhibitori ai virusului HSV-1 (Co-lizina, arginina, histidina, Co-peptide), ca insulino-mimetici (Zn- acid aspartic, prolina,treonina, valina), ca vasoconstrictori (Zn-L-histidina) utilizați în boli de carență (Fe-ac.aspartic, serina), ca medicamente utilizate în intoxicații cu metale;

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

- *în nutriție* ca suplimente nutritive în hrana porcilor (Zn-metionina), suplimente și fortifianți de fier în alimentația umană (Fe-glicina), etc.

Lucrarea de față constă din patru capitole după cum urmează: în primul capitol aspecte teoretice ale aminoacizilor, rolul biologic al metalelor tranziționale în organism, precum și aspecte teoretice referitoare la biomarkeri.

În al doilea capitol sunt descrise metodele experimentale de analiză structurală.

În cel de-al treilea capitol al lucrării sunt prezentate informații referitoare la probele studiate, la metodele experimentale folosite precum și rezultatele obținute.

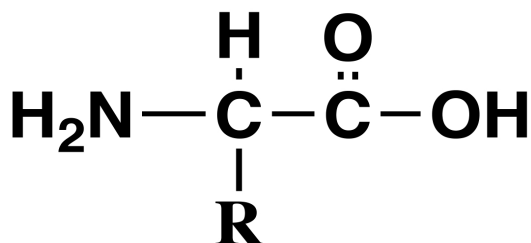
Lucrarea de față se încheie cu concluziile ce reies în urma acestui studiu și bibliografia utilizată.

CAPITOLUL I

I. Aminoacizi

Structură, clasificare și rol biochimic

Aminoacizii sunt compuși biochimici cu funcțiune mixtă, deoarece conțin o grupare funcțională carboxil (-COOH) și o grupare funcțională amină (-NH₂), ambele grefate la același atom de carbon din poziția α (sau C₂) [1].



Structura de bază a unui aminoacid

În funcție de particularitățile structurale ale radicalului R, aminoacizii se clasifică astfel:

1. Aminoacizi aciclici:

- a. Aminoacizi monoaminomonocarboxilici cu radical alifatic: glicocol/glicina (Gly), alanină (Ala), valină (Val), leucină (Leu), izoleucină (Ile);
- b. Aminoacizi monoaminomonocarboxilici cu o grupare hidroxil (hidroxiaminoacizi): serină (Ser), treonină (Thr);
- c. Aminoacizi monoaminomonocarboxilici cu sulf: cisteina (Cys), cistina (Cys-Cys), metionina (Met);
- d. Aminoacizi monoaminodicarboxilici: acid aspartic (Asp), acid glutamic (Glu), asparagina (Asn), glutamina (Gln);
- e. Aminoacizi diaminomonomocarboxilici: lizina (Lys), hidroxilizina (Lys-OH), arginina (Arg).

2. Aminoacizi ciclici:

- a. Aminoacizi homeociclici (cu nucleu aromatic): fenilalanina (Phe), tirozina (Tyr);
- b. Aminoacizi heterociclici: histidina (His), triptofan (Trp), prolina (Pro), hidroxiprolina (Pro-OH)

În funcție de caracterul pe care-l manifestă catenele laterale (R) aminoacizii se clasifică astfel:

- a) aminoacizi cu catene apolare – caracter neutru: glicină, alanină, leucină, izoleucină, metionină, fenilalanină, triptofan;
- b) aminoacizi cu catene polare: serina, treonina, cisteina, tirozina, asparagina, glutamina;

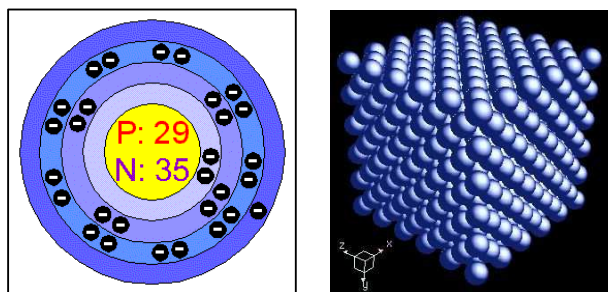
2. Rolul biologic al metalelor tranziționale în organism (Proprietăți fizico-chimice ale complecșilor metalici de interes biomedical)

1.1 Activitatea biologică a metalelor

Din totalul elementelor chimice cunoscute, natura a selectat aproximativ 52 care intră în compoziția materiei vii. În orice organism viu apar constant 40-43 de elemente (denumite bioelemente), din care 25 sunt elemente esențiale pentru structura și funcționalitatea sa. Aceste elemente se încadrează printre cele mai frecvent întâlnite în scoarța pământului, ceea ce demonstrează că selecția naturală a înlăturat dependența organismelor vii de elemente mai puțin accesibile. Șase din cele 25 elemente esențiale (C, N, H, O, P, S) constituie baza edificiului materiei organice vii (proteine, glicogen, amidon, lipide și acizi nucleici) [2].

1.1.1 Cuprul

Cuprul este un element esențial pentru ființele vii, cu rol important în hematopoieza și sinteza porfirinei, în numeroasele procese metabolice și intră, de asemenea, în compoziția unor cuproenzime [3].



Configurația electronică a ionului de cupru

Rolul biologic al cuprului

Cuprul are rol important în formarea oaselor, în sinteza pigmentilor pielii, ochilor, părului, în procesul de vindecare a rănilor, participă în sinteza eritrocitelor, este important pentru echilibrul psiho-emoțional și influențează funcția glandelor cu secreție internă.

Organul care reprezintă mai fidel concentrația cuprului în organismul uman este ficatul; drept consecință, unii autori acordă o importanță mai mare dozării Cu hepatic decât altor procedee pentru evaluarea stării de carență, suficientă sau intoxicație. Depozitat preponderent în celulele parenchimatose, cuprul poate apărea în cantitate mai mare și în celulele Kupffer în caz de intoxicație [4].

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

Complecși ai cuprului cu aminoacizi

În sistemele biologice, cuprul se găsește sub forma de Cu(II), mai rar Cu(I), în deoxihemocianine, și foarte rar Cu(III).

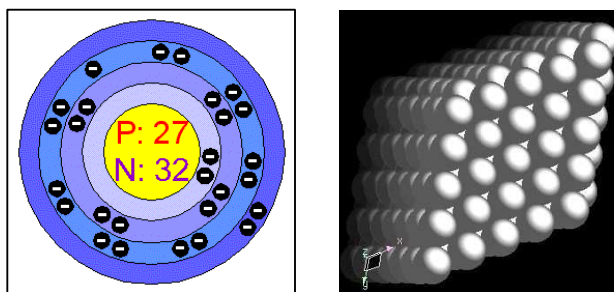
Funcția cuprului în sistemele biologice se regăsește în reacțiile redox asociate cu reducerea O₂ la apă, cu transferul O₂ la substrat, respectiv inserție de monooxigen – oxigenaza, cu transformarea fenolului la difenol și inserție dioxigen – dioxigenaza, cu transformarea catecolului la o chinonă.

Complexarea ionului de cupru cu diferiți α -aminoacizi este similară, cu excepția histidinei adică formarea de legături cu atomii de azot din gruparea aminică și atomii de oxigen din radicalul carboxilat, respectiv coordinare de tip glicină-NNOO [5].

1.1.2 Cobaltul

Cobaltul este un metal relativ puțin răspândit în natură are un rol foarte important în tehnică, importanță care se datorează valorii sale ca și component al aliaje dure (metaloceramice) și aliajelor de turnare de tipul steliților, precum și aliaje cu proprietăți specifice deosebite, magnetice, refractare și antiacide [6].

Cobaltul este un metal de tranziție, din grupa I B, este al 27-lea element din sistemul periodic, masa atomică 58.933 uam, densitate: 8.90 g/cm³, punct de topire: 1495 °C, punct de fierbere 2927⁰C, are configurația electronică: [Ar] 3d⁷ 4s².



Configurația electronică a ionului de cobalt

Rolul biologic al cobaltului

Cobaltul este un microelement esențial a cărui activitate biologică se manifestă prin rolul său în seria de coenzime și vitamine B₁₂. Vitamina B₁₂ este importantă în procesul de hematopoeză, fiind indispensabilă în sinteza hemoglobinei; este de asemenea factor antianemic și antipernicios.

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

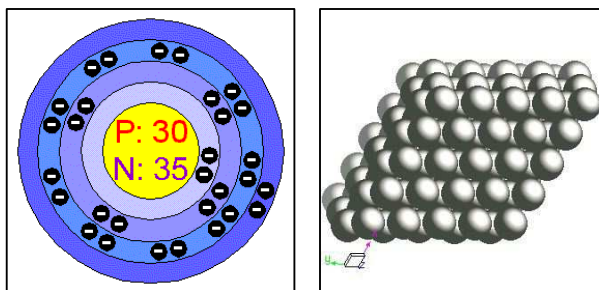
Absența cobaltului din organismele vii poate avea drept consecințe disfuncții severe ale sistemului nervos, anemie și dezvoltări nefirești în creșterea celulară. Pentru a trata aceste simptome, este nevoie de întreaga moleculă B₁₂ și nu doar de Cobalt.

Complecși ai cobaltului cu aminoacizi

Studiile recente asupra formării complecșilor de cobalt (II) cu diferiți tioaminoacizi, cum sunt cisteina și metionina, se datorează acțiunii bacteriostatice ale acestora [7]. De asemenea, literatura prezintă o serie de studii referitoare la acțiunea complecșilor de cobalt divalent cu lizina, arginina, histidina și serina asupra virusului HSV-1 [8]. Complecșii cu arginină și histidină nu au avut nici un efect asupra replicării virusului, însă complexul cu lizină inhibă replicarea virusului, iar cel cu serină are efect inhibitor foarte bun (90%).

1.1.3 Zincul

Zincul este un metal de tranziție, este al 30-lea element din sistemul periodic, masa atomică 65.39 uam, punct de topire: 419.58 °C, punct de fierbere 907°C, are configurația electronică: [Ar] 3d¹⁰ 4s², iar structura cristalină este hexagonală [9].



Configurația electronică a ionului de zinc

Rolul biologic al zincului

Zincul este un microelement cu virtuți (proprietăți) antioxidante și intră ca element activ în constituția a circa 60 de enzime; are rol important în: menținerea acuității vizuale, metabolismul proteinelor, activitatea pancreasului și a organelor sexuale, stimularea proceselor de vindecare a arsurilor și a rănilor, stimularea procesului de asimilare a unor vitamine, formarea leucocitelor, activarea sistemului imunitar, favorizarea sintezei acizilor nucleici și a proceselor de regenerare etc.

Zincul poate fi considerat unul dintre cele mai importante oligoelemente datorită implicării sale în mecanismele de construcție și producție celulară. Necesarul zilnic variază, la copil fiind

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

recomandat 5–10 mg, la adult 12—15 mg, în timpul sarcinii se recomandă creșterea aportului de zinc la 20–40 mg și chiar la 50 mg în caz de alăptare [10].

Complecși ai zincului cu aminoacizi

Deficiența nutrițională a zincului în țările dezvoltate determină creșterea susceptibilității la numeroși agenți patogeni, cum ar fi fungi, virusuri, bacterii [10].

Studierea și caracterizarea interacțiunii dintre triptofan, fenilalanină ca liganzi și ferocianuri de zinc, cobalt, cupru și nichel [10] au demonstrat că ambii aminoacizi au afinitate față de ferocianuri la pH=7, cea mai puternică interacțiune stabilindu-se între Zn(II) și triptofan.

3. Biomarkeri

Biomarkerul este definit drept un indicator al proceselor biologice normale, a celor patologice sau a răspunsului farmacologic la o intervenție terapeutică care poate fi evaluat/măsurat obiectiv. Biomarkerul poate fi o componentă a produselor biologice (sânge, urină, țesut) sau poate fi obținut prin înregistrare (ECG) respectiv explorare imagistică (ecocardiografie, CT etc). Ideală ar fi și determinarea markerilor genetici care pot fi reprezentați de: gena propriu-zisă, ARN-ul mesager (ARNm) sau proteinele codificate de ARNm [11].

Bibliografie

1. L. Bădulescu, curs de Biochimie horticolă, București (2010)
2. I. Burnea, I. Popescu, G. Neamtu, E. Stanciu, S. Lazar, *Chimie si biochimie vegetala*, Editura Didactica si Pedagogica, Bucuresti (1977)
3. G. Marcu, *Chimia modernă a elementelor metalice*, Editura Tehnică, București (1993)
4. M. Bert Weckhuysen, A. Verberckmoes, F. Lijun, R. Schoonheydt, *J. Phys. Chem.*, 100, 9456-9461 (1996)
5. R. Lontie, *Copper Proteins and Copper Enzymes*; CRC Press, Inc Boca Raton, FL,; Vols. 1-3 (1984)
6. D. Eugene Weinberg, *Antonie van Leeuwenhoek*, Springer Netherlands, 26 (1960)
7. V. Masatoshi, K. Masahiro, *J.Inorg.Biochem.*, .97,2, 240 (2003)
8. M. Dion, M. Agler, A. John, *Nutr.Cancer*, 28, 1 (1997)
9. Y. Adachi, M. Takaya, K. Kawabe, *Proc. Int. Symp. Bio-Trace Elem.*,140 (2002)
10. Y. Yutaka , E. Ueda, Y. Suzuki, *Chem.Pharm.Bull.*,49, 5, 652 (2001)
11. Biomarkers for Psychiatric Disorders, Springer (2009)

CAPITOLUL III. Studii structurale; Rezultate obținute

A. Studii spectroscopice a unor compuși metalici tranziționali cu metionină ca și ligand

Minerale, cum ar fi zincul, cuprul, fierul și altele, pot realiza legături chimice cu aminoacizii rezultând chelații. Aminoacizii sunt chelatori sau liganzi ideali atât din punct de vedere chimic [1] cât și nutrițional [2]. Chelații metalici ai aminoacizilor se aseamănă cu compușii care permit transportul mineralelor cu aminoacizii în timpul absorbției. În cele din urmă, aminoacizii, odată eliberați din metal, pot fi folosiți la construcția proteinelor sau pot furniza energie.

Analiza chimică elementală

Rezultatele analizei elementale pentru complecșii sintetizați confirmă raportul metal/metionina 1:2. Datele analizei elementale a complexului metionină-metal sunt menționate în Tabelul 1.

Tabelul 1. Rezultatele analizei elementale a complecșilor

Formula	Greutate moleculară	%C		%H		%N		%Metal	
		Calc.	Mas.	Calc.	Mas.	Calc.	Mas.	Calc.	Mas.
[Cu(L) ₂].H ₂ O	357.5	33.56	31.50	5.5	5.72	7.8	7.27	17.9	17.26
[Co(L) ₂].2H ₂ O	353	33.59	30.75	5.66	6.21	7.93	7.41	18.13	17.76
[Zn(L) ₂].H ₂ O	359.6	33.39	33.14	5.56	6.33	7.69	6.74	17.81	16.19

Absorbția atomică de masă

Rezultatele absorbției atomice pentru complecșii sintetizați sunt în concordanță cu cele teoretice obținute (Tabelul 2).

Tabelul 2. Concentrațiile metalelor obținute utilizând spectroscopia atomică.

Complexul	Concentrația metalului din complex (%)	
	Calc.	Mas.
1	17.44	17.43
2	16.05	15.77
3	15.66	16.47

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

Analiza calorimetrică diferențială (DSC)

Termograma DSC a ligandului indică la 275°C o reacție endotermică specifică substanțelor pure și o reacție exotermică între 310 și 360°C atribuită descompunerii și arderii compușilor organici. Termograma complexului 1 indică un proces de topire urmată de descompunere între 230 și 270°C și mai multe peakuri exotermice între 270 până la 420°C atribuite oxidării produsului de descompunere. Arderea completă a avut loc ulterior la 500°C. Termograma complexului 2 indică o reprezentare mai complexă cu peakuri datorate proceselor de deshidratare, descompunere, de oxidare și

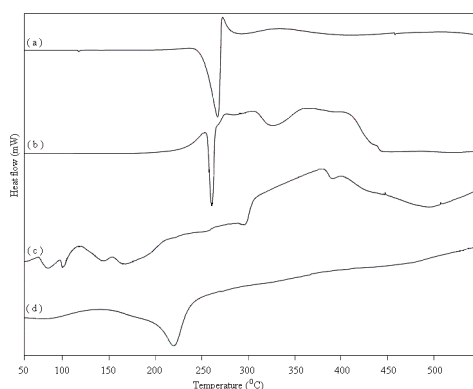


Figura 1. Termograma DSC a ligandului L (a), 1 (b), 2 (c) și 3 (d).

de ardere. Între 80 și 100°C au apărut două peakuri succesive corespunzătoare unui proces endotermic și au fost atribuite unor procese de deshidratare. După 100°C au avut loc două procese de descompunere între 130 – 200°C, 150 – 170°C și s-a format un produs intermediar. Procesul exotermic care a avut loc între 380 și 400°C a fost atribuit oxidării produsilor de descompunere. Arderea completă a avut loc ulterior la 480°C. Urma analizei calorimetrice diferențiale ale complexului 3 indică o reacție exotermică în intervalul 130-150°C atribuită procesului de cristalizare. Punctul de topire la o temperatură mai mică (220°C) decât aceea a ligandului (275°C) dovedește formarea complexului. Arderea completă a avut loc ulterior la 450°C. Termogramele pentru toate probele sunt date în Figura 1.

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

Spectroscopia FT-IR

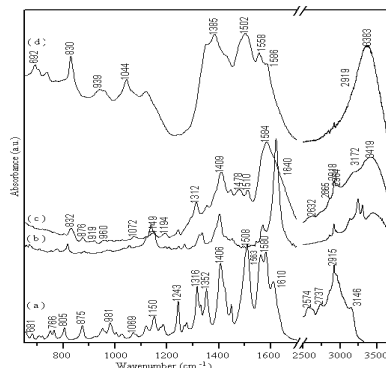


Figura 2. Spectrele FT-IR ale ligandului L (a), 1 (b), 2 (c) și 3 (d).

În spectrele ligandului vibrația de întindere $\nu(\text{N-H})$ apare la 3146 cm^{-1} și este deplasată la 3229 cm^{-1} , 3172 cm^{-1} și 3450 cm^{-1} pentru spectrele Cu(II) , Co(II) și Zn(II) dovedind implicarea grupării $-\text{NH}_2-$ în formarea complexilor [3, 4, 5]. Vibrațiile de întindere ale $\text{CH}_2\text{-S}$ și $\text{CH}_3\text{-S}$ apar sub forma unor benzi ascuțite la 2915 cm^{-1} în spectrul ligandului și sunt nesemnificativ deplasate în spectrele complexilor confirmând neimplicarea acestei grupări în coordinare. Banda de absorbție de la 1610 cm^{-1} din spectrul ligandului a fost atribuită vibrației de întindere $\nu(\text{C=O})$ și apare deplasată spre valori mai mari ale numerelor de undă în spectrele complexilor 1 și 2 care implică gruparea carboxilică la legarea covalentă a ionului metalic [6]. Vibrațiile de întindere $\nu(\text{OH})$ nu apar în spectrul ligandului, dar apar în spectrele complexilor la valori cuprinse între 3383 până la 3449 cm^{-1} , ceea ce evidențiază prezența apei de coordinare în acești complecși.

Spectroscopia UV-VIS

Simetria locală din jurul ionilor metalici a fost determinată comparând spectrele UV-VIS ale aminoacidului cu ale complexilor metalici.

Benzile caracteristice $n \rightarrow \pi^*$ în spectrele UV atribuite legăturii C=O apar la 267 nm pentru treonina (Figura 2.a) și au fost deplasate spre lungimi de undă mai mari cu 8 nm , 7 nm și 2 nm pentru respectiv 1, 2 și 3 confirmând prezența legăturii în complecși [15] și natura covalentă a legăturii metal-ligand. În domeniul vizibil (Figura 3) tranziția $d-d$ apare între 625 nm în spectrul complexului cupru atribuită tranziției ${}^2T_{2g} \rightarrow {}^2E_g$, specifică complexilor Cu(II) cu o simetrie tetragonală distorsionată datorată efectului Jahn-Teller. În domeniul vizibil, spectrul Co-L arată o bandă la 512 nm atribuită tranziției $d-d$ a electronilor cobaltului. Bazată pe diagrama d^7

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

în câmpul Oh au fost făcute următoarele atribuiri: $\nu_1 = 8100\text{cm}^{-1}$, ${}^4\text{T}_{2g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{F})$; $\nu_2 = 16000\text{cm}^{-1}$, ${}^4\text{A}_{2g}(\text{F}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{F})$; $\nu_3 = 19400\text{cm}^{-1}$, ${}^4\text{T}_{1g}(\text{P}) \rightarrow {}^4\text{T}_{1g}(\text{F})$.

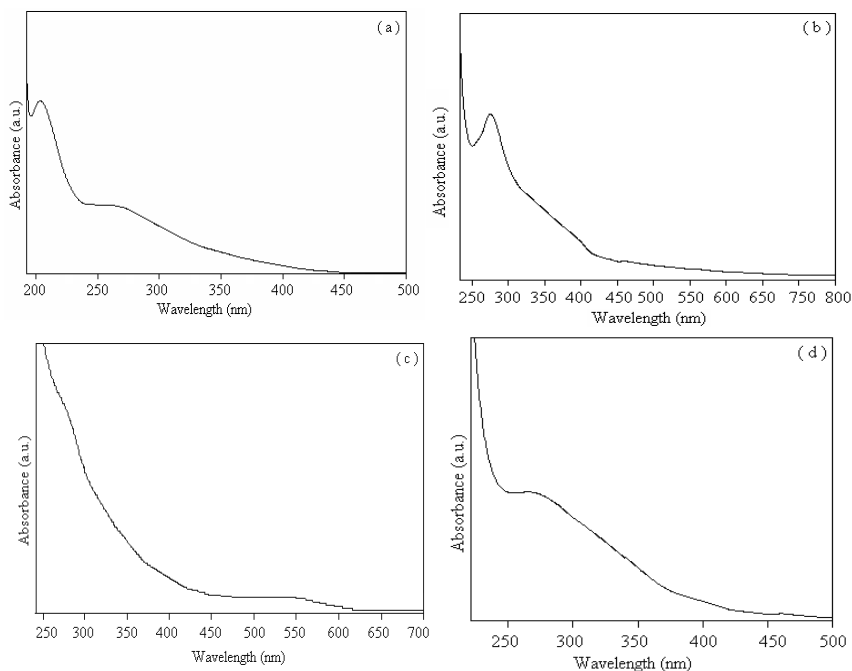


Figura 3. Spectrele UV VIS ale ligandului L (a), 1 (b), 2 (c) și 3 (d).

Spectroscopia EPR

Spectrul complexului de cupru realizat la temperatura camerei pe pulberi policristaline este tipic pentru speciile monomerice pseudotetraedrale cu valoarea tensorului g: $g=2.094$ corespunzând unui cromofor CuN_2O_2 [7, 8]. Spectrul Co-L a relevat prezența compușilor monomerici, cu simetrie octaedrală în jurul ionului de cobalt; valoarea tensorului g fiind: $g=2.201$ [9].

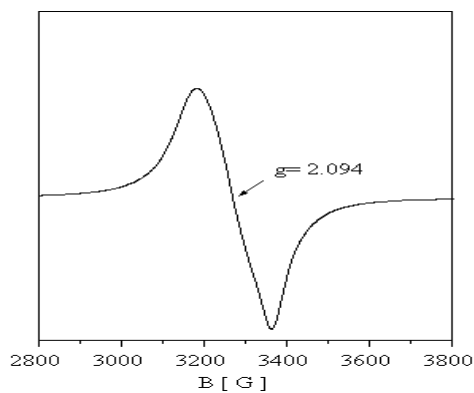


Figura 4. Spectrul RES al complexului 1 (Cu-metionina).

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

Concluzii

Au fost sintetizați și analizați prin analiza elementară, de absorbție atomică, IR, UV-VIS și spectroscopie RES, trei complecși metalici noi, utilizând metionina ca ligand. Scopul principal al studiului a fost de a compara capacitatea de complexare a aminoacizilor cu ionul de cupru, în condiții similare de sintetizare pentru a găsi acei complecși care sunt ușor de sintetizat cu randament mare pentru a-i folosi ca metodă de extracție și separare a aminoacizilor din amestecuri.

Analiza elementală și măsurătorile de absorbție atomică de masă confirmă stoichiometria complecșilor formați, compoziția a corespuns unui metal-ligand 1:2. Spectrele IR arată că aminoacizii acționează ca liganzi bidentați implicând în coordinare atomii de oxigen, gruparea carbonil și de nitrogen ai grupului amino. Spectrele RES confirmă simetria locală pseudotetraedrală pentru ionul de cupru și simetria octaedrală pentru ionul de cobalt.

Bibliografie

1. R. Bentley, *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 33, 4, 274 (2005).
2. A. Shoveller, B. Stoll, R. Ball, D. Burrin, *J. Nutr.*, 135, 7, 1609 (2005).
3. K. Burger, *Coordination Chemistry: Experimental Methods*, Akademiai Kiado, Budapesta (1973).
4. G. Socrates, *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*, third edition, Wiley, Chichester, (2001).
5. L. J. Bellamy, *The Infra-red Spectra of Complex Molecules*, Wiley, New York (1975).
6. B. L. Silva, P. T. C. Freire, F. E. A. Melo, I. Guedes, Araújo Silva, Mendes Filho, A. J. D. Moreno, *Brazilian Journal of Physics*, 28, 19 (1998).
7. Prenesti E., Berto S., Daniele P.G., *Spectrochimica Acta Part A* 59, 201-207 (2003)
8. Batiu C., Jelic C., Leopold N., Cozar O., David L., *Journal of Molecular Structure*, 744-747, 325-330 (2005)
9. Massabni A., Corbi P., Melnikov P., *J. of Coordination Chem.*, Vol.57, No.14, 1225-32 (2004)

B. Investigații preliminare a meteoritului de la Mociu prin raportul izotopic al plumbului, folosind spectrometrul de masă cu plasmă, cu cuadrupol, cuplat inductiv

Meteoritul de la Mociu, clasificat ca L5-6 chondrite [1] a căzut ca și o ploaie de pietre pe data de 3 februarie 1982 în regiunea Transilvania, pe o suprafață de mai mulți kilometri pătrați lângă Mociu. Numărul fragmentelor recuperate a fost estimat la 3000 cu o greutate totală de 300 Kg [2]. Locul exact în care a căzut meteoritul investigat (inv. no. I.34B) este satul Chesau, comuna Mociu, județul Cluj [2]. Datorită numărului mare de materiale prezente în mai mult de 30 de muzee din întreaga lume [2], meteoritul de la Mociu a fost studiat intens până acum; cu toate acestea, nici o măsurătoare a izotopilor de plumb nu a fost făcută până acum. Experimentul nostru s-a efectuat cu fragmente din întreaga rocă.

Pentru acest studiu, au fost selectați pentru măsurători ^{206}Pb , ^{207}Pb și ^{208}Pb . Datorită interferențelor izobarice, cuadrupolul nu poate diferenția izotopii ^{204}Pb și ^{204}Hg , iar mercurul a fost găsit la 1.047 mg/kg (alte studii [3] au găsit 1.120 mg/kg), ceea ce nu poate fi neglijat în măsurătorile noastre de plumb. Pentru probele terestre cu proporția de Hg izotopic cunoscută, corecțiile matematice pot fi efectuate pentru a deduce valoarea ^{204}Hg din suma totală a masei 204. Din moment ce până la această dată n-au fost încă furnizate rapoarte despre Hg izotopic în meteoritul de la Mociu, nici o astfel de corecție matematică nu poate fi aplicată. Interferențele din mercur ar cauza un semnal fals corespunzător masei 204, care ar interpreta corect determinarea ^{204}Pb , aceasta fiind imposibilă cu metodele curențe.

Concluzii

Pentru măsurătorile de plumb izotopic din proba meteoritului Mocs a fost folosit un spectrometru de masă cu plasmă inductiv cu un singur detector și cuadrupol. Metoda propusă a fost testată folosind NIST 981 și s-au obținut rezultate bune în determinarea plumbului. Chiar dacă vârsta radiometrică nu poate fi calculată folosind rezultatele curențe, acestea constituie o bază de comparație pentru studiul izotopilor de Pb din meteoriții condritici.

Bibliografie

1. Miura Y., Iancu G. Iancu G., Yanai K., Haramura H., Reexamination of Mocs and Tauti chondritic meteorites: Classification with shock degree, Proceedings NIPR Symposium of Antarctic Meteorites, 8:153-166 (1995)

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

2. Grady, M.M., Hutchinson, R., Graham, A.L., Catalogue of Meteorites; with special reference to those represented in the collection of the British Museum (Natural History), 5th ed., British Museum (Natural History), London, 689 p. (2000)
3. Hintenberger H., Jochum K.P., Seufert M., The concentration of the heavy metals in the four new antarctic meteorites Yamato (a), (b), (c) and (d) and in Orgueil, Murray, Allende, Abee, Allegan Mocs and Johnstown, Earth and Planetary Science Letters 20:391-394 (1973)

C. STUDII SPECTROSCOPICE ALE COMPLECȘILOR DE MANGAN, CUPRU ȘI PALADIU CU DICLOFENACUL CA LIGAND

Diclofenacul de sodiu, (2-[2,6-dichlorophenilamino] fenilacetat) (L) și complecșii cu metale tranziționale sunt medicamente puternice antiinflamatoare nesteroidale care au fost folosite pentru a atenua durerea și edemul asociat cu artritele reumatoide, osteoartritele, spondilitele și alte afecțiuni inflamatorii [1, 2]. Mecanismul exact de acțiune nu este în întregime cunoscut, dar se crede că mecanismul primar responsabil de acțiunea lor antiinflamatoare, antipiretică și analgezică este inhibiția sintezei prostaglandinei prin inhibarea ciclooxygenazei (COX) și pare să inhibe sinteza ADN-ului. Deasemenea inhibiția COX descrește prostaglandinele în epitelul stomacului făcându-l mai sensibil la corozia acidului gastric. Aceasta e principala reacție adversă a diclofenacului. Diclofenacul are tendința moderată de a bloca COX2-izoenzima și se spune are o incidență oarecum scăzută a afecțiunilor gastrointestinale decât cele determinate de indometacin și aspirină [3, 4].

Analiză elementală

Complecșii au fost sintetizați cu randamente bune (62% (1), 68 % (2) și 65 % (3) și rezultatele analizelor elementare (Tabelul 1) confirmă stoichiometria.

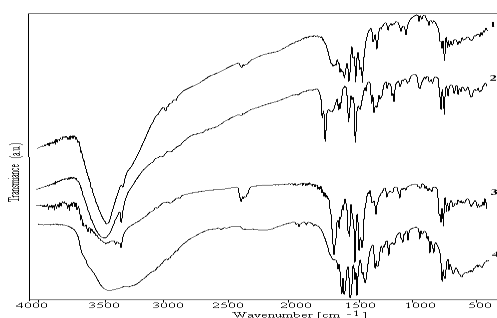
Tabel 1

	Culoare	Măsurate (calculate) (%)				
		C	H	N	Cl	M
1	Roz pal	51.0 (50.7)	3.5 (3.3)	4.0 (4.2)	21.1 (21.4)	8.1 (8.2)
2	Maro	46.2 (45.9)	3.5 (3.3)	3.7 (3.8)	19.7 (19.3)	14.7 (14.5)
3	Verde	49.1 (48.7)	3.8 (3.5)	3.7 (4.0)	20.4 (20.6)	9.5 (9.2)

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

Spectroscopia FT-IR

Banda caracteristică $\nu(\text{OH})_{\text{apă}}$ care apare în spectrul (1) și (3) arată o absorbție largă la $\sim 3500 \text{ cm}^{-1}$ ceea ce indică prezența unor molecule de apă de coordinare. Banda caracteristică de la 3388 cm^{-1} care apare în diclofenac este atribuită vibrației de întindere $\nu(\text{NH})$ și banda largă de la 3260 cm^{-1} reprezintă modul de vibrație, datorită legăturii de hidrogen intramoleculară [5-8]. Complecșii (1) și (2) prezintă benzi la 3563 cm^{-1} și respectiv 3568 cm^{-1} atribuite prezenței apei de coordinare și L, complecșii (2) și (3) prezintă benzi largi la 3456 , 3470 și respectiv 3446 cm^{-1} asociate structurii apei. Absența unor deplasări mari ale benzilor $\nu(\text{NH})$ și $\delta(\text{NH})$ în spectrele acestor complecși comparate cu acelea ale ligandului indică absența interacțiunii dintre gruparea NH și ionii metalici.

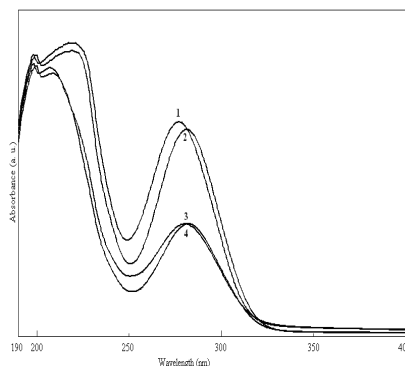


Spectrul FT-IR al **1**- $[\text{MnL}_2(\text{H}_2\text{O})]$, **2** - $[\text{PdL}_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, **3** - $[\text{CuL}_2(\text{H}_2\text{O})]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ și **4**-diclofenac sodic în granule de KBr.

Spectroscopia electronică

Spectrul electronic al ligandului prezintă trei benzi de absorbție la $\nu_1 = 199 \text{ nm}$, $\nu_2 = 209.5 \text{ nm}$, și respectiv $\nu_3 = 282 \text{ nm}$. Banda ν_1 este asociată tranzițiilor $\pi \rightarrow \pi^*$ în sisteme organice conjugate, banda ν_2 este caracteristică tranzițiilor $\pi \rightarrow \pi^*$ în gruparea carboxilică și banda ν_3 este caracteristică tranzițiilor $n \rightarrow \pi^*$ în sistemele aromatice. Spectrele de absorbție electronice UV ale complecșilor metalici sunt asemănătoare. Prezența diferiților cationi conduce la o creștere a energiei de legătură în complexul (3) sau de scădere în complexul (1) și (2). Aceste deplasări ar putea fi corelate cu implicarea celor doi atomi de oxigen din legătura grupării carboxilice din legătura metalică de tip coordinative, care determină o întărire a legăturilor C-O implicate în procesele de transfer de sarcină pentru complexul (3) și slăbirea acestor legături în complecșii (1) și (2) [9, 10].

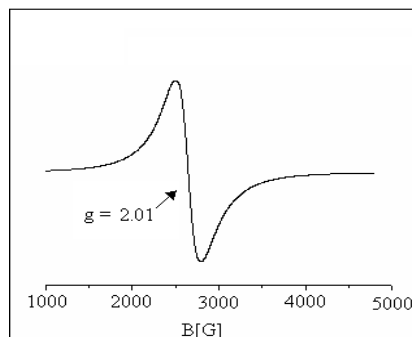
Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic



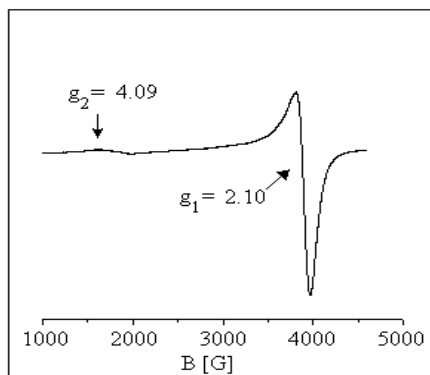
Spectrul UV al **1**-[PdL₂] \cdot 2H₂O, **2** - [MnL₂(H₂O)], **3** - [CuL₂(H₂O)] \cdot 2 \cdot 2H₂O și **4** - NaL \cdot 4H₂O, în metanol (c=10⁻⁵ M).

Spectroscopia RES

Spectrul RES al pudrei policristaline al complexului [MnL₂(H₂O)] la temperatura camerei este caracterizată de tensorul g cvasi-isotropic cu valoarea principală g=2.01 apropiată valorii de spin [11]. Semnalul la g \approx 4 în spectrul RES al pudrei complexului Cu(II) sugerează prezența interacțiunii dipol-dipol între ionii metalici [12].



Spectrul RES pentru complexul (1)



Spectrul RES pentru complexul (3)

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

Concluzii

Compușii metalici ai diclofenacului cu caracteristici antiinflamatorii au fost preparați și studiați cu metode spectroscopice IR și RES. Geometria pătratică piramidală cu un oxygen care ocupă atât poziția apicală a cuprului, unul al complexului de mangan și altul al complexului de palladium, toate acestea rezultă din datele analitice și spectroscopice.

Rezultatele măsurătorile spectroscopice confirmă prezența legăturilor metal-ligand, a simetriei piramidale ale complecșilor (1) și (2) și simetria tetraedrială pentru complexul (2).

Bibliografie

1. M. Konstandinidou, A. Kourounakis, M. Yangou, L. Hadjipetrou, D. Kovala-Demertzi, S. Hadjikakaou, M. Demertzis, *J. of Inorg. Biochem*, 70, 63 (1998)
2. D. Kovala-Demertzi, S. K. Hadjikakaou, M.A. Demertzis, Y. Deligiannakis, 69, 223 (1998)
3. N. K. Dutta, S. Annadurai, K. Mazumdar, J. Molnar, M. Martnis, L. Amaral, *Int. J. Antimicrob Agents*, 14, 249 (2000)
4. A.A. Dunk, R.P. Walt, W.J. Jenkins, S. S. Sherlock, *Br. Med. J.*, 284, 1605 (1982)
5. I. Zsako, *Chimie-Fizica – Structura atomilor și moleculelor*, Ed. Didactica și Pedagogică, Buucresti (1973)
6. L. David, C. Cristea, O. Cozar, L. Gaina, *Identificarea structurii molecular prin metode spectroscopice*, Presa Universitara Clujana, Cluj Napoca (2003)
7. T. N. Sorell, *Interpreting spectra of organic molecules*, University Science Books (1988)
8. D. H. Williams, I. Fleming, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag (1991)
9. W. Kemp, *Organic Spectroscopy*, London (1984)
10. A. Stanila, A. Marcu, D. Rusu, M. Rusu, L. David, *J. Mol Struct*, 364, 834 (2007)
11. F. Mabbs, D. Colisson, *Electron Paramagnetic Resonance of d transition Metal Compounds*, Elsevier, Amsterdam, 102 (1992)
12. V. Noethig-Laslo, N. Pauli, *Chemical Monthly*, Springer Wien, 128, 1101 (1997)

D. Diagnoză și control utilizând biomarkeri

Sunt necesari biomarkeri noi în cercetarea medicală ca indicatori măsurabili ai proceselor normale și patologice având drept scop o diagnosticare rapidă și sigură utilizând tehnici avansate.

Metode neinvazive și seminvazive au fost elaborate pentru determinarea cantitativă a biomarkerilor: valină, leucină, prolină, fenilalanină și tiroxină pentru bolile congenitale metabolice PKU și MSUD, cafeina pentru diagnosticarea cirozei și leukotrine pentru astm. GC/MS s-au dovedit a fi metode indispensabile în diagnosticarea bolilor congenitale ale metabolismului și este necunoscută pe scară largă eficacitatea lor în diferite domenii [1-2].

Influența bolilor de ficat asupra parametrilor farmacocinetici din cauza cafeinei cum ar fi clearance-ul și half-life au fost studiate cu GC/MS [3-5].

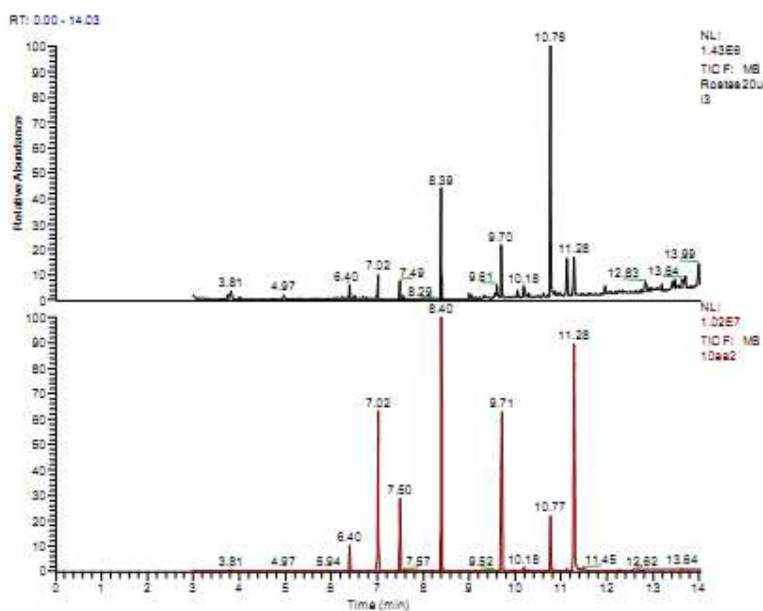


Fig 1 arată cromatograma de separare a cinci aminoacizi utilizând o metodă minim invazivă din 50 μ l de sânge. Analiza fiind efectuată în modul SIM utilizând selectarea ionilor din triflouracetil butil ester cu m/z 168 pentru valine, m/z 182 pentru leucină, m/z 183 pentru ^{15}N izoleucină folosită ca standard intern, m/z 166 pentru prolină, m/z 91 și 148 pentru fenilalanină și m/z 203, 260, 316 pentru tiroxină; 25 $\mu\text{g/ml}$ din IS a fost agăugat la fiecare probă.

Concluzii

GC/MS este o metoă convenabilă pentru diagnosticul PKU în bolile congenitale ale sângelui din raportul Phe/Tyr și MSUD din valorile a trei aminoacizi. Măsurătorile efectuate pe aminoacizi din picăturile de sânge uscat au arătat o bună precizie și acuratețe.

Studii structurale ale unor complecși metalici cu aminoacizi și ale unor biomarkeri utilizați în diagnostic

La pacienții cirofici eliminarea cafeinei la $t_{1/2}$ a fost semnificativ mai lungă și degajarea a fost substanțial redusă față de control. Parametrii farmacocinetici ai cafeinei au fost determinați utilizând probe de sânge analizate prin procedura GC/MS. LKB₄ a fost detectat aerul expirat. GC/MS, metodă neinvazivă, a arătat creșterea semnificativă a valorilor LKB₄ la copii cu boală astmatiformă decât la cei sănătoși.

Bibliografie

1. M. Culea, A. Iordache, C. Mesaros, Chemicke listy J, 102, 636 (2008)
2. C. Deng, C. Shang, Y. Hu, X. Zhang, J. Chromatogr B, 775, 115 (2002)
3. M. Culea, C. Mesaros, E. Culea, Chemicke listy J, 102, 661 (2008)
4. M. Culea, N. Palibroda, P. Panta Chereches, M. Nanulescu, Chromatographia, 53, 387 (2001)
5. S. Wittayalerpanya, V. Mahachai, Caffeine clearance in patients with chronic viral hepatitis before and after interferon therapy (2001)

CAPITOLUL IV. Concluzii

Au fost sintetizați și analizați prin analiza elementară, de absorbție atomică, IR, UV-VIS și spectroscopie RES, trei complecși metalici noi, utilizând metionina ca ligand.

Scopul principal al studiului a fost de a compara capacitatea de complexare a aminoacizilor cu ionul de cupru, în condiții similare de sintetizare pentru a găsi acei complecși care sunt ușor de sintetizat cu randament mare pentru a-i folosi ca metodă de extracție și separare a aminoacizilor din amestecuri.

Analiza elementală și măsurătorile de absorbție atomică de masă confirmă stoichiometria complecșilor formați, compoziția a corespuns unui metal-ligand 1:2. Spectrele IR arată că aminoacizii acționează ca liganzi bidentati implicând în coordinare atomii de oxigen, gruparea carbonil și de nitrogen ai grupului amino. Spectrele RES confirmă simetria locală pseudotetraedrală pentru ionul de cupru și simetria octaedrală pentru ionul de cobalt.

Pentru măsurătorile de plumb izotopic din proba meteoritului Mocs a fost folosit un spectrometru de masă cu plasmă inductiv cu un singur detector și cuadrupol. Metoda propusă a fost testată folosind NIST 981 și s-au obținut rezultate bune în determinarea plumbului. Chiar dacă vârsta radiometrică nu poate fi calculată folosind rezultatele curente, acestea constituie o bază de comparație pentru studiul izotopilor de Pb din meteoriții condritici. Compușii metalici ai diclofenacului cu caracteristici antiinflamatorii au fost preparați și studiați cu metode spectroscopice IR și RES.

GC/MS este o metoă convenabilă pentru diagnosticul PKU în bolile congenitale ale sângelui din raportul Phe/Tyr și MSUD din valorile a trei aminoacizi. Măsurătorile efectuate pe aminoacizi din picăturile de sânge uscat au arătat o bună precizie și acuratețe.

La pacienții cirofici eliminarea cafeinei la $t_{1/2}$ a fost semnificativ mai lungă și degajarea a fost substanțial redusă față de control. Parametrii farmacocinetici ai cafeinei au fost determinați utilizând probe de sânge analizate prin procedura GC/MS. LKB₄ a fost detectat aerul expirat. GC/MS, metodă neinvazivă, a arătat creșterea semnificativă a valorilor LKB₄ la copii cu boală astmatiformă decât la cei sănătoși.