



Universitatea Babeș-Bolyai
Facultatea de Chimie și Inginerie Chimică



Rezumatul tezei de doctorat
Studii computaționale cu aplicații practice

Doctorand

Szilárd Zoltán Pesek

Conducător științific:

Prof. Dr. Radu Silaghi-Dumitrescu

Cluj-Napoca

2023

Cuprins

1. **Introducere**..... Error! Bookmark not defined.
2. **Complexul supramolecular iod/iodură/amidon** Error! Bookmark not defined.
 - 2.1. Introducere **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.1. Considerații generale ale reacției amidonului cu iod **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.2. Dependența de natura (bio)polimerului organic. **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.3. Date geometrice **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.4. Ipoteza numai- I_2 **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.5. Anionii poli-iod ca candidați **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.6. Rolul structural al apei..... **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.7. Scopul prezentului studiu **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.2. Materiale și metode **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3. Rezultate și discuții **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3.1. Complecși amiloză-iod/iodură: considerații structurale **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3.2. Simulări UV-vis ale lanțurilor I_2 liniare **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3.3. Simulări UV-vis ale sistemelor liniare I_n^- **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3.4. Simulări UV-vis ale sistemelor liniare $I_n^- - I_2$ **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.3.5. Efectele solventului **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.4. Concluzii **Error! Bookmark not defined.**
3. **Analiza organizării supramoleculare în acidul polilactic (PLA)**.. Error! Bookmark not defined.
 - 3.1. Introducere **Error! Bookmark not defined.**
 - 3.2. Materiale și metode **Error! Bookmark not defined.**
 - 3.3. Rezultate și discuții **Error! Bookmark not defined.**
 - 3.3.1. Interacțiuni supramoleculare între lanțurile PLA ... **Error! Bookmark not defined.**
 - 3.3.2. Comparația structurilor asemănătoare proteinelor cu structura experimentală De Santis **Error! Bookmark not defined.**
 - 3.3.4. Analiza Ramachandran a structurilor PLA optimizate **Error! Bookmark not defined.**
 - 3.3.5. Concluzii..... **Error! Bookmark not defined.**

4. Contribuții computaționale la înțelegerea eliminării și degradării diclofenacului de sodiu prin mecanism bazat pe radicali folosind lacaza <i>S. sclerotiorum</i>	Error! Bookmark not defined.
4.1. Introducere	Error! Bookmark not defined.
4.1.1. Analiza UV-vis a oxidării diclofenacului de către lacază	Error! Bookmark not defined.
4.1.2. Analiza EPR	Error! Bookmark not defined.
4.1.3. Spectrele de masă și atribuirea structurii	Error! Bookmark not defined.
4.2. Materiale și metode	Error! Bookmark not defined.
4.3. Rezultate și discuții	Error! Bookmark not defined.
4.3.1. Caracterizarea precipitatului indus de lacază	Error! Bookmark not defined.
4.4. Concluzii	Error! Bookmark not defined.
5. Predicția proprietăților UV-vis și fluorescența într-o serie de derivați de fenatiazoni	Error! Bookmark not defined.
5.1. Introducere	Error! Bookmark not defined.
5.2. Materiale și metode	Error! Bookmark not defined.
5.3. Rezultate și discuții	Error! Bookmark not defined.
5.4. Concluzii	Error! Bookmark not defined.
6. Evaluarea DFT a seriei spectrochimice	Error! Bookmark not defined.
6.1. Introducere	Error! Bookmark not defined.
6.1.1. Teoria câmpului cristalin și ligand	Error! Bookmark not defined.
6.1.2. Seria spectrochimică.....	Error! Bookmark not defined.
6.1.3. Factori de confuzie care afectează seria spectrochimică: covalență, efect nefelauxetic, parametrii Racah.....	Error! Bookmark not defined.
6.2. Materiale și metode	Error! Bookmark not defined.
6.3. Rezultate și discuții	Error! Bookmark not defined.
6.4. Concluzii	Error! Bookmark not defined.
7. Concluzii	Error! Bookmark not defined.
8. Referințe	Error! Bookmark not defined.
9. Lista publicațiilor și participărilor la conferințe	Error! Bookmark not defined.
10. Informatii suplimentare	Error! Bookmark not defined.

- 10.1. Pentru capitolul 2: Despre originea culorii albastre în complexul supramolecular iod/iodură/amidon..... **Error! Bookmark not defined.**
- 10.2. Pentru Capitolul 3: Analiza organizării supramoleculare în acidul polilactic (PLA)**Error! Bookmark not defined.**
- 10.3. Pentru capitolul 4: Îndepărtarea și degradarea diclofenacului de sodiu prin mecanism bazat pe radicali folosind lacaza *S. sclerotiorum* **Error! Bookmark not defined.**
- 10.3.1. Materiale și metode **Error! Bookmark not defined.**
- 10.3.2. Caracterizarea enzimatică a sistemului lacază-diclofenac...**Error! Bookmark not defined.**
- 10.4. Pentru capitolul 5: Predicția proprietăților UV-vis și fluorescența într-o serie de derivați de feniazoni **Error! Bookmark not defined.**
- 10.5. Pentru Capitolul 6: Evaluarea DFT a seriei spectrochimice**Error! Bookmark not defined.**

Cuprinsul rezumatului

1. Introducere	6
2. Complexul supramolecular iod/iodură/amidon	8
3. Analiza organizării supramoleculare în acidul polilactic (PLA)	15
4. Contribuții computaționale la înțelegerea eliminării și degradării diclofenacului de sodiu prin mecanism bazat pe radicali folosind lacaza din <i>S. sclerotiorum</i>	19
5. Predicția proprietăților UV-vis și fluorescența într-o serie de derivați de fenatiazoniu	24
6. Evaluarea DFT a seriei spectrochimice	28
7. Concluzii	32
8. Referințe.....	34

Cuvinte cheie: *amidon, polimer, complex, acid polilactic, structură, diclofenac, fenatiazoniu, DFT, spectrochimic*

1. Introducere

Nevoile societății actuale au condus la transformarea întregului proces de predare-învățare-evaluare într-un ritm mai alert, bazat pe dezvoltarea tehnologiilor și pe evoluția paradigmei educaționale. Astfel, misiunea sistemului educațional este de a folosi strategii eficiente de formare a competenței în utilizarea tehnologiilor informaționale, de la simple operații până la posibilitatea manifestării elementelor creative și dezvoltarea de noi produse intelectuale. Dezvoltarea acestor abilități specifice permite o adaptare mai flexibilă la schimbările majore intervenite în secolul nostru având un impact favorabil asupra utilizării tehnologiilor informatice de calcul în viața de zi cu zi.

Proiectarea activității didactice moderne la disciplina chimie, în contextul schimbărilor actuale, necesită o nouă structură, impusă atât de noile cerințe ale curriculum-ului școlar, cât și de dorința elevilor și profesorilor de a folosi mijloace informaționale moderne în cadrul instrucțional. -procesul educațional.

Prin studiile chimiei se urmărește dezvoltarea competențelor digitale, în domeniul tehnologiilor informației și comunicațiilor. Astfel, se formează competențe în utilizarea instrumentelor cu acțiune digitală în situații reale și competențe în crearea de documente în domeniul comunicativ, informațional și utilizarea serviciilor electronice, inclusiv a internetului, în situații reale.

Utilizarea acestor tehnologii informaționale în chimie prezintă mai multe avantaje, printre care aș dori să menționez: diversificarea strategiilor de predare, stimularea interesului pentru ceva nou, motivarea învățării prin imagini cu obiecte legate de viața de zi cu zi, prin video chimic, experiențe, posibilitatea de a le viziona de câte ori este necesar, posibilitatea simulării fenomenelor chimice, a utilizării imaginilor animate și dinamice, facilitând învățarea conținutului curriculumului de chimie; utilizarea laboratoarelor virtuale pentru activități experimentale informatice, integrarea cunoștințelor prin realizarea de proiecte individuale și de grup, asigurarea unor mecanisme eficiente de educație diferențiată și individualizată, crearea propriului drum de dezvoltare profesională etc.

Studii recente demonstrează legături interdisciplinare între Chimie-Fizică-Biologie care pot fi extinse la alte domenii pe baza unor sarcini suplimentare. Așadar, în cazul studenților care

desfășoară proiecte de cercetare se pot realiza obiective transdisciplinare, având o influență benefică asupra formării competenței profesionale.

Integrarea obiectivelor din domeniul chimiei cu soluții din domeniul tehnologiilor informaționale sau din alte domenii, reprezintă indiscutabil noi oportunități în abordarea unor probleme complicate. Toate acestea susțin dezvoltarea abilităților de cercetare a fenomenelor concrete, contribuind la motivarea pentru formare, la creșterea performanței școlare și la formarea unor specialiști capabili să propună soluții inedite.

Noile tehnologii informaționale și implicit modelarea computațională nu sunt doar un instrument de prezentare a conținutului existent într-un mod diferit. Ele trebuie să conducă la modificarea modului de gândire și a stilului de lucru cu clasa profesorilor.

Prezenta teză încearcă să utilizeze instrumentele moderne ale chimiei computaționale pentru a ilustra aplicații pe probleme de interes foarte general, care pot fi traductibile sau identificabile pentru elevi și studenți. Sunt alese patru subiecte pentru explorarea computațională. Prima este reacția de culoare foarte comună iod-amidon - un instrument prezent în cele mai vechi experimente de laborator din școli, precum și în multe proceduri analitice predate la clasele de licență. Cu toate acestea, însuși mecanismul acestei reacții este încă neclar; această teză raportează calcule, însoțite de unele experimente, care pot oferi un mecanism convingător care reconciliază conflictele aparente anterioare dintre experiment și teorie. Aceste calcule implică predicții ale proprietăților spectroscopice (sau, mai simplu spus, culoarea – simulate cu calcule funcționale de densitate dependente de timp, TD-DFT), precum și arhitecturi supramoleculare ale catenelor de oligo/polizaharide și poli-halogenuri. Un al doilea subiect tratat în teză este natura structurii secundare și supramoleculare într-un biopolimer de interes practic, acidul polilactic; acest capitol al tezei extinde lucrările anterioare ale doctorandei Izabela Irsai și se concentrează pe influența interacțiunilor intra și intermoleculare slabe asupra formei/conformației generale a moleculelor. Un al treilea subiect al tezei presupune exemplificarea utilizării chimiei computaționale în atribuirea identității produselor de reacție din amestecuri de reacție complexe într-un proces de interes/perspective generale și anume bioremedierea apei contaminate cu un compus medical, diclofenacul. Aici, din nou, calculele TD-DFT sunt instrumentul principal. Un al patrulea capitol recurge la calculele TD-DFT pentru a raționaliza și a prezice variații subtile de culoare și fluorescență între o serie de compuși organici. Al cincilea capitol revine la domeniul anorganic ilustrat și de lanțurile poli-ioduri din

primul capitol, iar acum discută un subiect de interes general în chimia metalelor de tranziție, și anume seria spectrochimică. Sunt folosite calcule DFT și analize orbitale moleculare, în încercarea de a explora în mod sistematic validitatea și aplicabilitatea acestui instrument de bază binecunoscut al chimiei coordinative și de a raționaliza variațiile sale subtile față de experimente, precum și între diferite tipuri de centre metalice.

2. Complexul supramolecular iod/iodură/amidon¹

Amiloza este un polimer liniar care conține de obicei 300-3000 (sau uneori mult mai multe) unități monomerice, întotdeauna legate prin legături glicozidice $\alpha(1\rightarrow4)$.¹ Amilopectina are o structură similară, prezintă în plus ramificații prin legături $\alpha(1\rightarrow6)$. Ambii polimeri sunt puțin solubili în apă - cu amiloză mai mult decât amilopectina. În interiorul organismelor vii, enzima amilaza este în principal responsabilă pentru hidroliza amidonului. Dextrinele, care sunt polizaharide cu un grad scăzut de polimerizare, sunt produse prin hidroliza parțială a amidonului; cu hidroliza completă se formează glucoză.²

Amiloza poate exista într-o conformație amorfă dezordonată sau în două forme elicoidale diferite. Poate forma o dublă helix cu el însuși (forma A sau B) sau se poate lega cu o altă moleculă oaspete hidrofobă, cum ar fi iodul, un acid gras sau un compus aromatic și este cunoscut sub numele de forma V (cf. Figura 2. 1.). Lanțul polizaharidic al V-amilozei găsit în mod natural în segmentele non-A și non-B ale amilozei conține 6 unități de glucoză pe tură, cu o înălțime a treptei de 7,91 până la 8,17 Å⁷⁻⁹ și formează un canal de cavitate centrală similar, fiind pliat într-o singură spirală de stânga. Forma V poate fi izolată prin precipitare din soluție apoasă folosind alcooli, cetone, acizi grași, iod sau săruri care formează complecși de incluziune. Proprietățile astfel găsite sunt similare cu cele găsite în ciclodextrinele înrudite, α -ciclodextrina sau ciclohexaamiloza (CA6).^{14,15}

¹ Acest capitol este publicat ca Pesek, Szilard, Lehene, Maria; Branzanic, Adrian M. V.; Silaghi-Dumitrescu, Radu. On the origin of the blue color in the iodine / iodide / starch supramolecular complex. *Molecules*, 2022, 27(24), 8974; <https://doi.org/10.3390/molecules27248974> și un review Silaghi-Dumitrescu, R.; Pesek, S. The Iodine/Iodide/Starch Supramolecular Complex. *Preprints* 2023, 2023081380. <https://doi.org/10.20944/preprints202308.1380.v1>

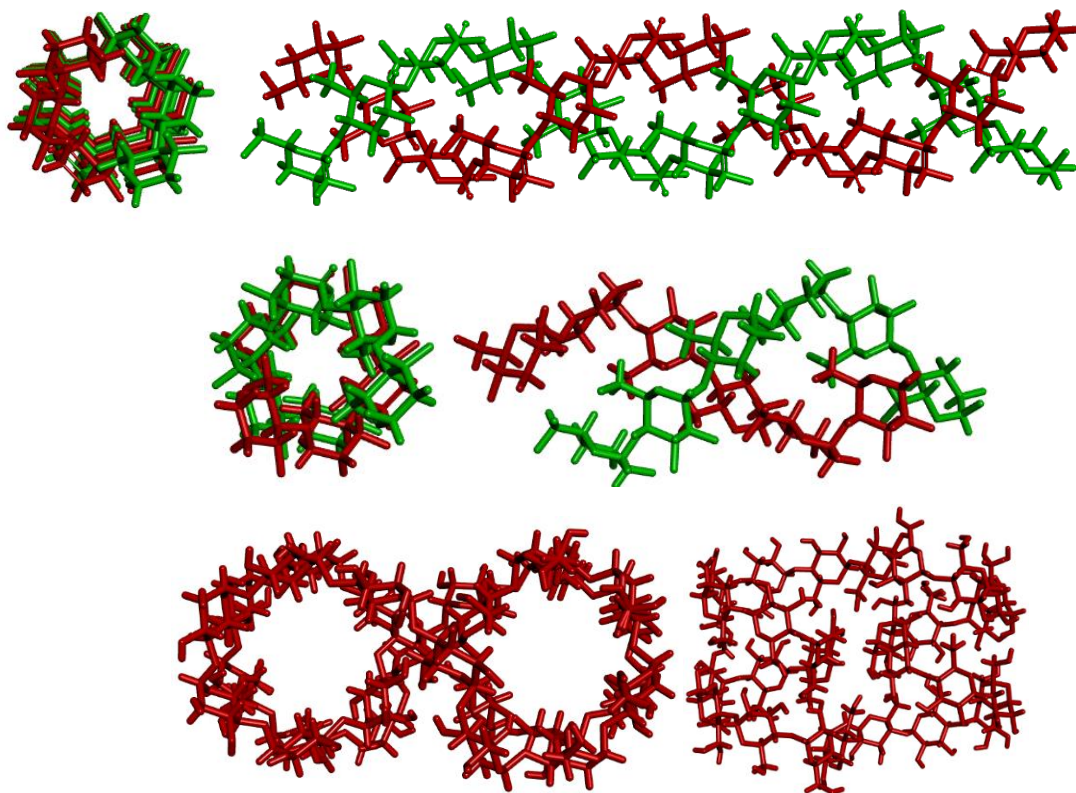


Figura 2. 1. Modele moleculare de elice de (a) cicloamiloză de tip A, tip B și tip V.

Amiloza V este alomorful cunoscut pentru complexele sale de un albastru profund cu iod. Moleculele de iod sunt prinse în interiorul helixului amilozei, unde pot fi prezente și molecule de solvent. Natura complexului albastru de amiloză cu iod a constituit un subiect activ de cercetare timp de multe decenii.²² Stoichiometria și sarcina electrică a substructurilor poli-iod ale complexului amidon-iod sunt încă disputate. Cu toate acestea, acum este în general acceptat că ionii de iodură sunt, de asemenea, necesari în proces, astfel încât lanțurile de poli-iod din interiorul helixului de amiloză constau dintr-un amestec/combinație de I_2 și I^{-22-28} cu o structură metalică neobișnuită.²⁹

Acest capitol al tezei prezintă un studiu experimental și computațional al sistemului amiloză-iod-iodură, folosind spectre UV-vis și metode computaționale (TD-DFT, calcule semiempirice și de mecanică moleculară) în scopul modelării structurii complexului și pentru a evalua viabilitatea diferiților candidați potențial responsabili pentru culoarea albastră. Sunt examinate structuri poli- I_2 precum și I_n^- .

I_2 singur, fie în soluții apoase, fie în soluții alcoolice (metanol sau etanol) duce la modificări abia detectabile ale absorbanței la ~600 nm în reacția cu amidonul. Amestecurile de iod-iodură dau o culoare albastră, care nu se observă cu glucoză în loc de amidon. Maximul de absorbantă al complexului iod-iodură-amidon în experimentele raportate de noi este la ~580 nm. Acesta este ușor diferit de cei 615 nm raportați pentru amiloză în literatură – dar este în concordanță cu faptul că mostrele noastre de amidon conțin și amilopectină, precum și cu faptul că poziția exactă a maximului depinde de sursa amidonului, precum și de asupra concentrațiilor relative ale reactivilor.^{24,26,41-44} Într-adevăr, ușoare modificări dependente de concentrație ale poziției maximului sunt observate atunci când se modifică concentrația de iodură precum și când se modifică lungimea lanțurilor de amiloză/amilopectină prin folosirea unei amilaze.

Legarea I_2 de helix (modelul A- I_2 din Tabelul 2. 1. și Figura 2. 2.) conduce la distorsiuni mai mici ale helixului decât legarea apei (1% și, respectiv, 4% pentru lungime și diametru). Caracterul nepolar al I_2 poate fi considerat responsabil pentru această diferență. Energia de interacțiune a amilozei cu iodul, per moleculă I_2 , este în esență neglijabilă, așa cum era de așteptat, în conformitate cu faptul că helixul de amiloză nu servește la stabilizarea moleculelor I_2 prin interacțiuni necovalente glucidă- I_2 , ci mai degrabă pentru a oferi un mediu mai puțin hidrofob pentru moleculele de iod.

Legarea moleculelor de apă și iod intercalate în amiloză (modelul A- I_2 - H_2O) are ca rezultat distorsiuni mai apropiate de modelul A- H_2O (creștere cu 3% în lungime, 10% în diametru), probabil în concordanță cu faptul că moleculele de apă aderă la pereții interni ai helixului. Energia totală de interacțiune dintre amiloză și cele 3 unități I_2 și 4 de H_2O din A- I_2 - H_2O este de numai ~5 kcal/mol - sugerând astfel că amestecurile de apă-iod sunt un amestec puțin probabil să se găsească în interiorul helixului de amiloză. Mai mult, și mai important, având în vedere interacțiunile puternice amiloză-apă observate în modelul A- H_2O , se poate aștepta ca moleculele I_2 singure să nu poată disloca moleculele de apă din interiorul helixului de amiloză. Acest lucru poate explica de ce s-a demonstrat că I_2 se leagă eficient de amiloză în stare uscată/solidă, dar mult mai puțin în soluție (cu excepția cazului în care sunt furnizate condiții speciale, de exemplu încălzire).⁴⁵

Tabel 2. 1. Distanțele cheie (Å) derivate calculate pentru modele de iod-amiloză. Geometria de pornire a modelelor A prezenta o lungime de 32,69 Å (măsurată de la O51 la O483 și O87 la O519) și un diametru de 7,04 Å (măsurată de la H424 la H481).

Model	Lungime helix	Diametru helix	Distanțe I-I
I ₂	-	-	2.54
I ₃ ⁻	-	-	2.62
(I ₂) ₃	-	-	Intramolecular: 2.55 / 2.55 / 2.55 Intermolecular: 2.94 / 2.94
A	32,90	7,15	-
A-H ₂ O	34,38	7,82	-
A-I ₂	33,08	7,44	Intramolecular: 2,55 / 2,56 / 2,56 / 2,56 / 2,56 / 2,56 / 2,55 Intermolecular: 2,85 / 2,84 / 2,84 / 2,83 / 2,83 / 2,84
A-I ₂ -H ₂ O	34,00	7,89	Intramolecular: 2,65 / 2,65 / 2,65 Inter-I ₂ : 7,60 / 5,80 H ₂ O-I: 4,56 / 5,09 / 3,92 / 3,92 / 3,79 / 3,93
A-I ₃ ⁻	34,04	7,14	2,65 / 2,65

După cum arată calculele noastre DFT, o moleculă de iod izolată afișează un maxim slab la ~600 nm, datorită unei tranziții π^* (HOMO) \rightarrow σ^* (LUMO). Într-un dimer I₂ liniar, acest maxim arată o schimbare batocromică și o ușoară creștere a intensității, așa cum era de așteptat, deoarece la o distanță intermoleculară atât de scurtă, orbitalii de frontieră ai celor două molecule I₂ se amestecă. Lanțurile mai lungi de molecule I₂ urmează aceleași tendințe observate atunci când merg la monomerii I₂ la (I₂)₂ (inclusiv alungirea distanțelor intermoleculare la optimizarea geometriei). Deplasările batocromice și hipercromice continuă în măsura în care în heptamer intensitatea benzii de 600 nm s-a triplat în comparație cu iodul izolat. Aceste date confirmă observațiile experimentale și calculele semiempirice anterioare conform cărora un lanț liniar de molecule I₂ poate fi găzduit în anumite condiții în interiorul helixului de amiloză și că un astfel de lanț ar prezenta o culoare mai intensă decât moleculele de iod liber în soluție. Banda responsabilă pentru această culoare albastră îmbunătățită implică o tranziție HOMO- \rightarrow LUMO, unde HOMO este o combinație de orbitali I₂ π^* și LUMO este o combinație de orbitali I₂ σ^* . Cu cât lanțul poli-I₂ este mai lung, cu atât mai mult există tendința ca acești orbitali moleculari să nu mai aibă exact aceeași distribuție între aceiași atomi - permițând astfel benzii de 600 nm să câștige un caracter de transfer de sarcină care poate fi responsabil pentru puterea crescută a oscilatorului. În geometriile optimizate poli-I₂, orbitalii moleculari de frontieră responsabili

pentru culoarea albastră sunt localizați în cea mai mare parte la cele două capete ale lanțurilor - și tocmai la aceste capete și la moleculele I_2 care preced la capete - sarcina menționată mai sus va avea loc transferul. Cu toate acestea, dacă moleculele I_2 sunt compactate împreună în razele van der Waals (și nu sunt optimizate în continuare), centrul și nu marginile lanțului poli- I_2 este cel care deține cea mai mare contribuție la banda de 600 nm - deși, din nou, partea mai importantă de transfer de sarcină va afecta mai clar moleculele de iod care preced capetele lanțului. Deși considerentele de mai sus pot explica interacțiunile amiloză - I_2 în anumite condiții, creșterea benzii de 600 nm la alungirea poli- I_2 este încă relativ mică - nici măcar un ordin de mărime la trecerea de la monomer la heptamer. Prin urmare, lanțurile poli-iod-iodură au fost luate în considerare în continuare, așa cum este ilustrat în Tabelul 2. 4.

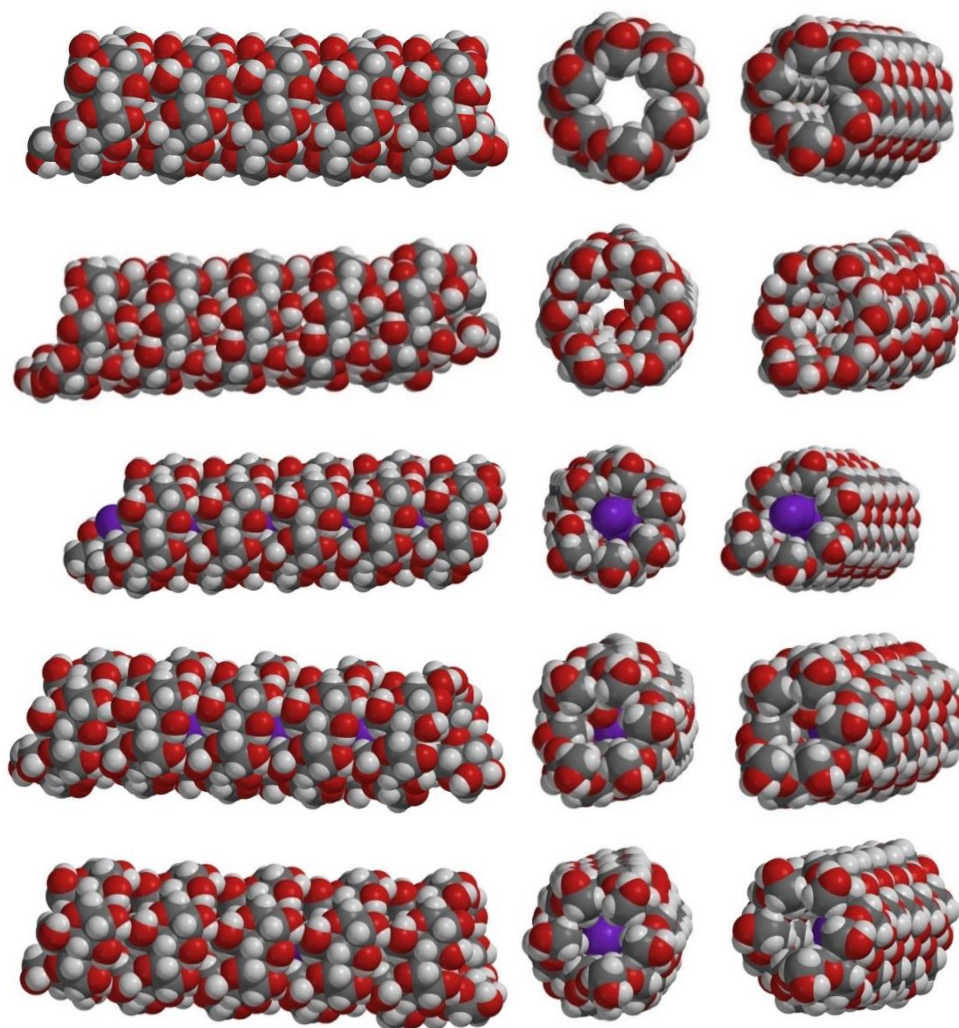
















Figura 2. 2. Structuri ale modelelor de amiloză optimizate AM1, în ordinea rândurilor: A, A- H_2O , A- I_2 , A- I_2-H_2O , A- I_3^- .

Tabel 2. 2. Distanțele I-I (Å), lungimile de undă pentru maximul major în regiunea vizibilă (nm), tăria oscilatorului (OS) și orbitalii moleculari relevanți pe modele liniare I_n^- - I_2 din calculele TD-DFT (B3LYP/def2-SV(P)). Datele prezentate cu caractere cursive sunt pentru structurile construite cu distanțe intramoleculare I-I cunoscute experimental pentru I_2 în stare solidă (2,72 Å) și cu distanțe intermoleculare stabilite arbitrar la 4,05 Å (adică, la limita sumei razelor van der Waals) - fără orice optimizare suplimentară a geometriei.

Toate celelalte date provin din geometrii complet optimizate.

Model	Distanțe	Lungimi de undă	OS	Orbitali	
$I_2-I_3^-I_2$	2,72,4,05	680	1,5507	HOMO -2 (86) 	LUMO (89) 
$I_2-I_3^-I_2$	2,80, 3,36, 3,00, 3,00, 3,36, 2,80	479	3,7407	HOMO -4 (84) 	LUMO (89) 
$I_2-I_5^-I_2$	2,72, 4,05	681	1,9297	<i>HOMO -4 (109)</i> 	<i>LUMO (114)</i> 
$I_2-I_5^-I_2$	2,76, 3,57, 2,89, 3,13, 3,13, 2,89, 3,57, 2,76	576	3,8021	HOMO -4 (109) 	LUMO (114) 
$I_2-I_7^-I_2$	2,72, 4,05	666	2,6088	<i>HOMO -4 (134)</i> 	<i>LUMO (139)</i> 
$I_2-I_9^-I_2$	2,72, 4,05	655	3,9582	HOMO -6 (157) 	LUMO (164) 
$I_2-I_5^-$ $I_2-I_5^-I_2$	2,72, 4,05	681	2,3723	<i>HOMO-9 (192)</i> 	<i>LUMO+1 (203)</i> 

Monoanionii I_n^- ($n = 1, 5, 7, 9$) tind să prezinte benzi în regiunea de ~ 400 nm. Cu toate acestea, natura și intensitatea acestor benzi depind puternic de geometria anionului. Când anionul este construit cu distanțe I-I echivalente, pentru a imita delocalizarea completă a sarcinii negative în moleculă, banda de absorbție prezisă rămâne foarte slabă și aproape de regiunea de 400 nm. Natura acestei tranziții rămâne foarte asemănătoare cu cea observată în lanțurile poli- I_2 (adică, π^* (HOMO) $\rightarrow \sigma^*$ (LUMO)). Când geometria lanțurilor I_n^- este optimizată, simetria moleculei este pierdută pe măsură ce distanțele I-I nu mai rămân degenerate; important, această asimetrie permite tranziției HOMO-LUMO să câștige un caracter semnificativ de transfer de sarcină – atât de mult încât intensitatea acesteia crește cu 3-4 ordine de mărime în comparație cu modelele complet simetrice. Aceste creșteri ale intensității sunt, de asemenea, însoțite de mici deplasări

batocrome; cu toate acestea, aceste schimbări par limitate sub 500 nm și, prin urmare, acești polianioni de iodură nu par a fi candidați rezonabili pentru speciile de 600 nm observate experimental. O altă schimbare notabilă a acestor geometrii optimizate a speciei I_n^- este că la $n > 3$ orbitalul HOMO implicat în tranziția vizibilă are acum și caracterul σ^* .

Tabelul 2. 2. prezintă un set de modele care oferă un acord excelent cu experimentul, în măsura în care prezintă benzi extrem de intense la 600 nm. Aceste modele includ specii I_n^- înconjurate de două molecule I_2 neutre. În astfel de modele, tranziția de ~ 600 nm are loc de la un orbital σ^* al anionului central de oligo-iodură la orbitalii σ^* ai moleculelor I_2 terminale. Pentru sistemul $I_2-I_3^-I_2$, structura formală care prezintă moleculele I_2 la razele van der Waals din anionul I_3^- permite o bandă foarte puternică la 680 nm. Cu toate acestea, la optimizarea geometriei această structură colapsează în anionul I_7^- , ca un candidat puțin probabil pentru complexul de culoare albastră. Nu se observă un astfel de colaps pentru modelul $I_2-I_5^-I_2$, care este astfel primul dintre cei discutați în prezentul studiu care poate fi propus ca un candidat puternic ca contribuitor la culoarea albastru amiloză-iod. În plus, distanța medie iod-iod în geometria optimizată cu DFT a lui $I_2-I_5^-I_2$ este de 3,09 Å, remarcabil de aproape de distanța de 3,1 Å măsurată experimental pentru complexul iod-iodură-amiloză. După cum se arată în Tabelul 2. 2., combinațiile I_2 cu specii mai lungi nu pot fi excluse.

Banda de 600 nm din Tabelul 2. 2. se preconizează că se va schimba cu până la 25 nm la trecerea de la $n=3$ la $n=9$, în timp ce în același interval se vede că intensitatea sa se dublează. Având în vedere incertitudinile privind formula exactă a speciei, nu sunt cunoscuți coeficienții de extincție siguri pentru complexul amiloză-iod-iodură; Tabelul 2. 2. arată acum că ar fi deosebit de dificil de măsurat, deoarece lanțurile de poli-iod de diferite lungimi vor avea coeficienți de extincție diferiți. Pe de altă parte, având în vedere unitatea $I_2-I_5^-I_2$ ca fiind cel mai probabil candidat dintre cei examinați în Tabelul 2. 2. pentru „complexul albastru”, se poate lua în considerare cum se pot comporta lanțurile mai lungi de astfel de unități. Tabelul 2. 2. arată, prin urmare, că ansamblul omolog $I_2-I_5^-I_2-I_5^-I_2$ - din punct de vedere tehnic, un dimer de $I_2-I_5^-I_2$, prezintă un maxim de absorbție în esență la aceeași lungime de undă ca și monomerul - deși cu o altă coeficientul de extincție. Ca atare, $I_2-I_5^-I_2$ în sine, și nu lanțurile/polimerii mai lungi ai acestora, pare suficient pentru a justifica culoarea albastră a complexului iod-iodură-amiloză.

În concluzie, în acest capitol a fost modelată interacțiunea amiloză-iod-iodură cu calcule electronice de structură. Sunt prezise modificări ale structurii helixului la legarea iodului.

Structurile poli-I₂ se dovedesc a fi responsabile pentru culoarea albastră îmbunătățită în anumite condiții (de exemplu, amiloză uscată/solidă). Structurile poli-I_n⁻ sunt puțin probabil să existe în interiorul helixului de amiloză sau să fie responsabile pentru culoarea albastră. În schimb, perechile I₂/I_n⁻ cu benzi de transfer de sarcină de la I_n⁻ (n>3) σ* ocupat la orbitalul I₂ σ* gol sunt considerate a fi responsabile în mod rezonabil pentru culoarea albastră. Dintre acestea, asociațiile I₂-I₅-I₂ sunt cea mai mică (și posibil - dar nu neapărat - repetitivă) unitate care reprezintă minime locale în calculele DFT, cu distanțe medii iod-iod esențial identice cu valoarea de 3,1 Å observată experimental în complexul amiloză-iod. Caracterul distinct de transfer de sarcină al benzilor UV-vis aduce, de asemenea, o dependență puternică de constanta dielectrică în regiunea ε ~ 1 - 30, care, la rândul său, poate explica cel puțin o parte din dependența proprietăților UV-vis ale complexelor de amiloză-iod/iod pe diverși factori externi care pot afecta subtil arhitectura amilozei și, prin urmare, expunerea cavității interioare la solvent (de exemplu, temperatură, alte substanțe dizolvate, solvenți, lungimea lanțului).

3. Analiza organizării supramoleculare în acidul polilactic (PLA)²

Acidul lactic (LA) este un intermediar metabolic cheie în majoritatea organismelor vii.⁴⁶ Acidul polilactic (PLA) este unul dintre cele mai importante materiale polimerice biodegradabile pentru aplicații industriale^{47,48}. LA este o moleculă chirală cu izomeri de tip d și l, formând astfel trei forme de PLA: acid poli-l-lactic (PLLA), acid poli-d-lactic (PDLA) și acid poli-D,L-lactic (PDLA)⁴⁹. Structura tridimensională a PLA este încă subiect de cercetare. O serie de investigații au vizat realizarea de analogii între acidul lactic și aminoacizi (de exemplu, pe baza faptului că LA poate fi privit ca un analog al alaninei în care gruparea amino a fost înlocuită cu un hidroxil) - punând întrebarea dacă PLA poate adopta caracteristici structurale secundare (și eventual terțiare și cuaternare) analoge cu cele observate la aminoacizi. Optimizări ale geometriei structurii secundare a acidului polilactic (PLA), constând din unități decamerice, analoge celor observate în structura proteinelor - structuri elicoidale (α, π, 3₁₀), precum și a unei structuri β – au fost raportate folosind mecanică moleculară, metode semiempirice, ab initio și

² Publicat ca Irsai, Izabella; Pesek, Szilard, Silaghi-Dumitrescu, Radu. A critical review of computational efforts towards identifying secondary structure elements in polylactic acid (PLA). *Revue Roumaine de Chimie*, 2023, in press, and Irsai, Izabella; Pesek, Szilard, Silaghi-Dumitrescu, Radu. Polylactic acid inter-chain interactions. *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Seria Chemia*, 2022, LXVII, 47-71 ; DOI:10.24193/subbchem.2022.4.04.

funcționale de densitate. Cea mai bună metodă utilizată (M062x/6-311+G**) prezice că structurile α , π și 3_{10} au energii foarte asemănătoare, cu π ușor favorizat de valorile din limitele de eroare ale metodei. În plus, o comparație a PLLA cu PDLA a arătat că structura acidului lactic poli-L este favorizată energetic față de PDLA.⁵⁰

A fost de asemenea examinată interacțiunea dintre două lanțuri de acid polilactic. Structurile PLLA s-au dovedit a fi mai stabile decât copolimerii poli(DL-lactic) (PDLA). Prin examinarea structurilor individuale cu HF/3-21G*, s-a determinat că dimerul β este cel mai stabil, iar dimerul π -helix a fost cel mai puțin stabil. Deoarece valorile obținute au fost foarte apropiate, a fost dificil de determinat care este cea mai stabilă geometrie.⁵³ S-a constatat că predicțiile computaționale privind stabilitățile relative depind de metodele utilizate. În cazul PLLA, helixul α este prezis cel mai stabil la metodele empirice și semiempirice. Metodele Hartree-Fock anticipează că cea mai stabilă structură este structura β . Metodele DFT prevăd că elicele α , π , 3_{10} au energii similare, în contrast cu rezultatele obținute prin metode semiempirice și empirice. După metoda DFT cu setul de baze mai mare incluzând funcții difuze, cea mai stabilă dintre cele patru structuri examinate este helixul π și cea mai puțin stabilă este structura β . Există aceleași discrepanțe între metode pentru PDLA ca și pentru PLLA. Raportată aici este o investigație la nivel molecular a interacțiunilor slabe inter-lanț care implică unități PLA, ca parte a unui efort care urmărește în cele din urmă să furnizeze date utile pentru prezicerea și controlul proprietăților macroscopice ale materialelor pe bază de PLA. De asemenea, se oferă o perspectivă critică asupra tipurilor de structură secundară din lanțurile PLA.

Stabilitatea geometriilor generate a fost determinată ca diferență între energia obținută în timpul optimizării dimerului și de 2x valoarea energiei primite din optimizarea monomerului.

Tabelul 3. 1. prezintă un rezumat al datelor colectate pentru energiile de interacțiune inter-lanț astfel calculate pe unitatea de acid lactic, pe baza adaptării din lucrările anterioare ale lui Irsai¹⁷². Aceste valori sunt de așteptat să fie utile în prezicerea energiilor de interacțiune între lanțuri de lungimi diferite de structurile decamerice examinate în studiul prezent. Cele mai slabe interacțiuni se văd pentru structurile perpendiculare; dintre acestea, cele mai puternice sunt pentru π , 3_{10} , în timp ce structura DeSantis nu oferă deloc un minim local. Cele mai puternice interacțiuni sunt observate cu structuri paralele – dintre care cele mai mari energii de interacțiune sunt cu monomerii DeSantis și π (până la 2,8 și, respectiv, 4,2 kcal/mol per unitate de acid lactic).

Tabel 3. 1. Energiile relative (kcal/mol) ale interacțiunilor inter-lanțuri pe unitatea de acid lactic.

ΔE	α	π	3_{10}	β	DeSantis
Perpendicular	1,0	1,5	0,9-1,6	1,2	-
Antiparalel	1,8	2,2-3,5	0,4-0,5	1,8-3,2	1,5-1,9
Paralel	0,4-2,7	2,6-2,8	0,6-2,4	1,1-2,1	2,6-4,2

Unghiurile Φ și Ψ au fost apoi măsurate în geometriile optimizate ale elicelor α , π , 3_{10} , a structurii β și a structurilor De Santis ale unităților PLA decamerice. Aceste valori sunt enumerate în Tabelul 3. 2. pentru datele M062x, cu reprezentări grafice în Figura 3. 1. Helixurile α , π și 3_{10} par să afișeze unghiuri semnificativ diferite de valorile inițiale – și toate centrate în jurul valorii de $-60/70$ și $-20/30^\circ$. Asemănarea dintre aceste trei structuri optimizate este reflectată de lungimile de lanț similare, toate sugerând că cele trei structuri optimizate descriu în esență același tip de structură secundară. Ușoarele diferențe de energie (la nivelul teoriei M062x) sunt reflectate în principal de diferențe ușoare ale unghiurilor Φ și Ψ la capetele lanțului decamic. Valorile unghiului sunt în mod rezonabil similare în toate cele trei cazuri cu structura β de tip III observat în clasificarea canonică a peptidei după modelul Ramachandran. Structura β , după optimizare, apare mai aproape de un ac de agrafă δ . Structura DeSantis, după optimizare, nu prezintă nicio asemănare cu nicio structură asemănătoare peptidei cunoscută canonic.

Tabel 3. 2. Unghiurile ϕ și Ψ Ramachandran bazate pe valorile unghiului ale helixului α optimizat DFT (valorile inițiale sunt -58° și -47°), helix π (valorile inițiale sunt -57° și -70°), helix 3_{10} (valorile inițiale sunt -49 și -26), foaie β (valorile inițiale sunt 180° și 180°) și structura De Santis (valorile inițiale sunt -29° și 92°).

Structura de plecare canonică	Atribuirea structurii optimizate
α helix	β turn III
π helix	β turn III
3_{10} helix	β turn III
β sheet	δ turn
De Santis	Niciuna

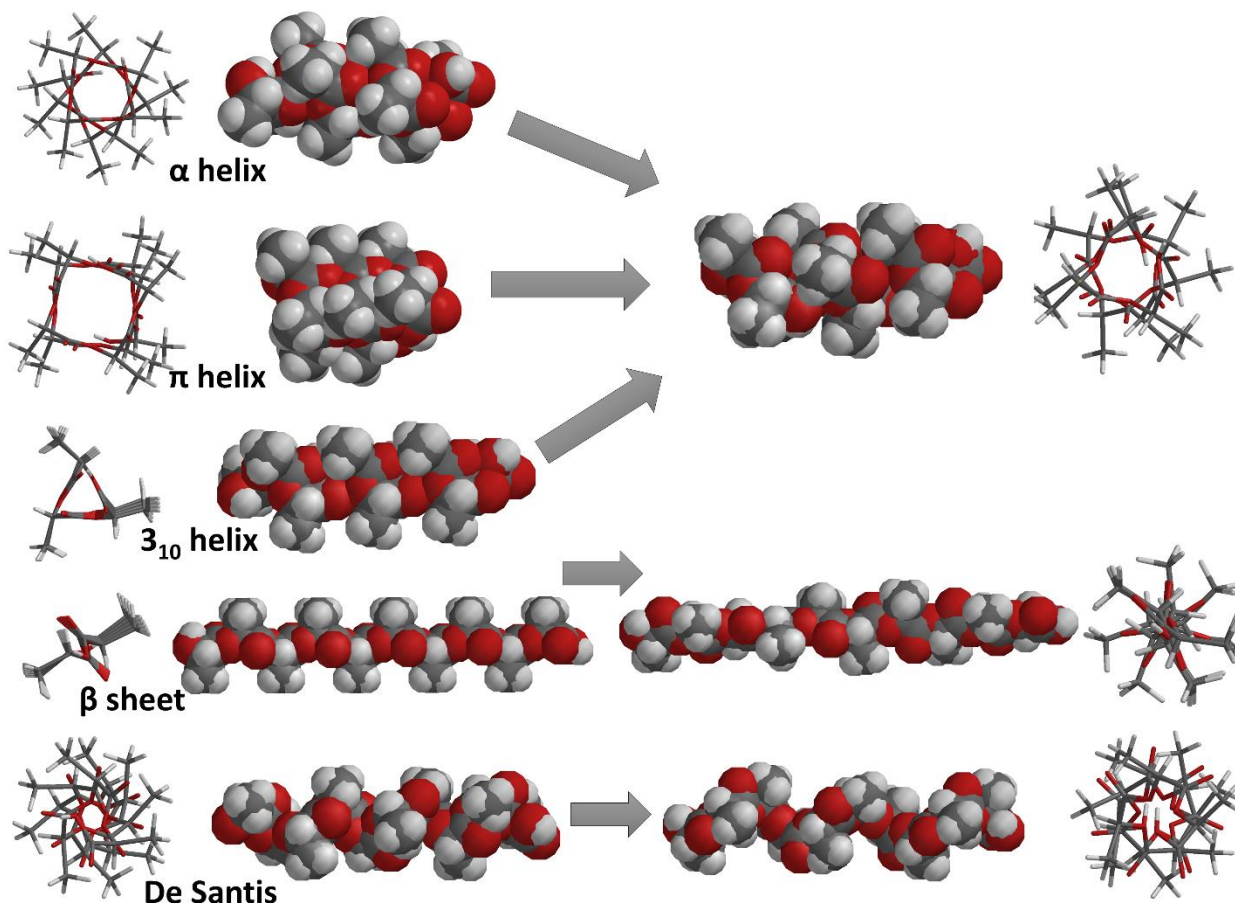


Figura 3. 1. Reprezentări grafice ale structurilor PLA canonice (stânga) și ale geometriilor optimizate DFT obținute pornind de la aceste structuri.

S-a pus întrebarea dacă, în ceea ce privește organizarea în spațiu pentru structura de tip secundar, acidul polilactic (PLA) poate fi considerat un analog al unei oligo/polipeptide poli-alanine, în care gruparea amino a fost înlocuită cu un hidroxil. O serie de studii au explorat posibilitatea ca PLA să poată adopta structuri secundare de tip peptidic - adică modele structurale repetitive caracterizate prin legături de hidrogen intramoleculare între grupuri funcționale învecinate. În acest scop, au fost aplicate o serie de tehnici de calcul, examinându-se stabilitățile relative ale elicelor (α , π , 3_{10}) și structurilor β , precum și la o structură specifică PLA propusă de DeSantis. Aceste studii anterioare au examinat energiile relative, caracteristicile structurale generale și datele spectroscopice ale unor astfel de elemente de structură secundară propuse ale PLA. Cu toate acestea, deși au observat că structurile calculate (optimizate cu geometrie) s-au îndepărtat de forma canonică inițială în ceea ce privește lungimea totală, au neglijat să descrie

starea unghiurilor Φ și Ψ după optimizarea geometriei. Analizând aceste date cu accent pe metoda de calcul de calitate superioară (funcționala M062x, parametrizată în special pentru descrierea interacțiunilor necovalente – care sunt cheia pentru descrierea elementelor de structură secundară), constatăm că geometriile PLA optimizate se îndepărtează de fapt departe de valorile inițiale Φ , Ψ – în măsura în care toate structurile secundare asemănătoare peptidelor ajung, de fapt, ca ace de agrafă / turn (în mare parte ture de tip III β – cu o întoarcere δ posibilă, dar defavorizată energetic), în timp ce De Santis optimizat cu DFT structura nu are corespondent clasic în seria Ramachandran de structuri secundare. Astfel, în limitele metodelor de calcul folosite până acum, în PLA sunt propuse doar două tipuri de organizare spațială ca fezabile: ace de agrafă de tip III β și un aranjament specific PLA (pe baza structurii propuse de DeSantis din date experimentale) care nu are paralele în structurile secundare peptidice clasice. Spre deosebire de structurile secundare ale peptidelor, forța motrice pentru organizarea structurală tridimensională repetitivă în PLA nu este legătura de hidrogen între grupurile funcționale ale scheletului, ci mai degrabă repulsiile sterice și legăturile slabe de hidrogen dintre protonii CH_3 din lanțul lateral și atomii de oxigen din coloana vertebrală.

4. Contribuții computaționale la înțelegerea eliminării și degradării diclofenacului de sodiu prin mecanism bazat pe radicali folosind lacaza din *S. sclerotiorum*³

Diclofenacul (acidul [2-(2,6-dicloranilino)fenil]acetic, vândut de obicei sub formă de sare de sodiu, potasiu sau amoniu) este unul dintre cele mai frecvent utilizate medicamente antiinflamatoare nesteroidiene (AINS), cu analgezice, antipiretice și activitate antiinflamatoare.⁵⁴ Timpul de înjumătățire plasmatică al diclofenacului de sodiu variază de la 1 la 3 ore, cu o concentrație plasmatică maximă care apare în aproximativ 3 ore.⁵⁶ Datorită utilizării pe scară largă, diclofenacul este unul dintre compușii cel mai frecvent detectați în efluenții stațiilor de epurare și în apele de suprafață. Expunerea prelungită la concentrații de diclofenac relevante pentru mediu duce la o deteriorare a stării generale de sănătate a peștilor.^{59–61} Datorită

³ Published as Coman, Cristina and Hadade, Niculina and Pesek, Szilard and Silaghi-Dumitrescu, Radu and Moț, Augustin, Removal and Degradation of Sodium Diclofenac Via Radical-Based Mechanisms Using *S. Sclerotiorum* Laccase. Preprint available as <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4505088>

mecanismului său multimodal de acțiune și capacității de a pătrunde în placentă, diclofenacul este cunoscut că are o serie de reacții adverse nedorite.^{62,63}

Lacaza este o oxidoreductază care conține cupru care catalizează oxidarea monoelectronică a diferitelor substraturi, cum ar fi fenolii și aminele aromatice sau alifatică, la radicalii corespunzători, folosind oxigenul molecular ca acceptor final de electroni.⁶⁴ Lacazele apar pe scară largă la ciuperci; au fost caracterizate mai rar la plantele superioare.⁶⁴ Rapoarte recente privind apariția lacazei și funcțiile sale în dezvoltarea fiziologică și utilitatea industrială au arătat că această enzimă este capabilă să oxideze diferite substraturi cu absorbția concomitentă de oxigen, în funcție de greutatea moleculare, pH-ul mediului și specificitatea substratului.⁶⁴⁻⁶⁸ Grupul nostru a caracterizat anterior în detaliu o lacază din *Sclerotinia sclerotiorum* cu stabilitate termică foarte bună și a cărei adaptabilitate remarcabilă a substratului include modularea situsului activ prin modificare covalentă în timpul ciclului catalitic.⁶⁷⁻⁶⁹

O varietate foarte mare de procese de bioremediere propuse pe efluenți industriali folosesc lacaza. Cercetările din ultimii ani au fost intense, o mare parte din ele concentrându-se pe utilitatea diversității largi de lacaze sau pe identificarea compușilor rezultați din enzimologia lor interesantă.^{70,71,80-89,92,90-93,73-79} Capitolul actual contribuie la un raport experimental în curs de desfășurare pentru a investiga potențialul lacazei *S. sclerotiorum* în descompunerea unui compus farmaceutic utilizat în mare măsură, și anume diclofenacul, și pentru a identifica produsele secundare rezultate din acest proces cu ajutorul HPLC cuplat cu detectoare de spectrometrie de masă și UV-vis. Reacția lacazei ar putea fi o alternativă la alte soluții aplicate pentru îndepărtarea compușilor farmaceutici ca poluanți emergenți din apa reziduală, cum ar fi, de exemplu, fotocatalitice,⁹⁴ ozonare,^{95,96} sau prin tratament non-termic cu plasmă.^{97,98} Specific acestui studiu este utilizarea unei lacaze deosebit de versatile, o analiză chimică detaliată a produselor și a mecanismelor de reacție și avantajul transformării diclofenacului în material insolubil care poate fi îndepărtat mai ușor din efluenții industriali – prin contrast cu protocoale care pur și simplu transformă diclofenacul în alte produse solubile în apă care pot fi încă active biologic.

Pe baza factorilor de retenție HPLC (care ar fi de așteptat să se coreleze cu hidrofobicitatea) și a spectrelor de masă din datele HPLC-MS, structurile au fost propuse pentru 7 dintre produse, așa cum este indicat în Figura 4. 1. Spectrele UV-vis prezise de DFT oferite o potrivire rezonabilă pentru experiment, așa cum se arată în Tabelul 4. 1.

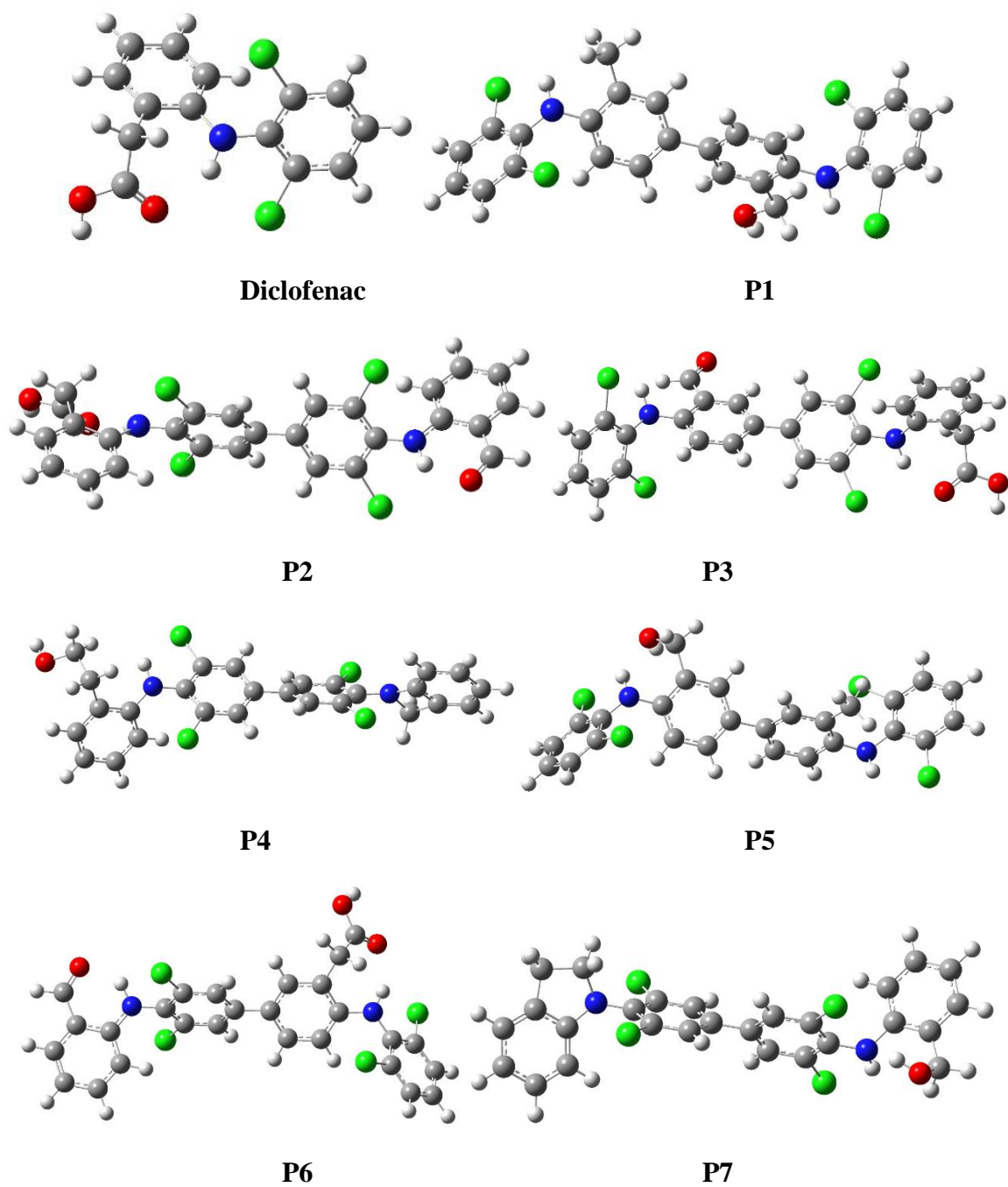


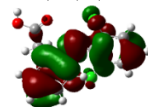
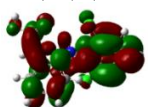

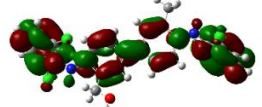
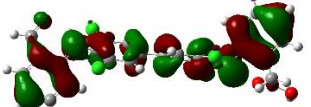
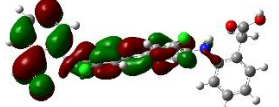
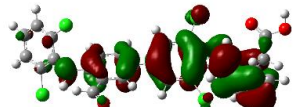

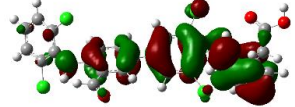
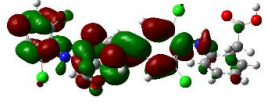
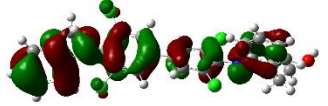
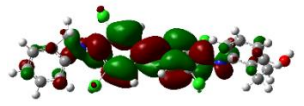
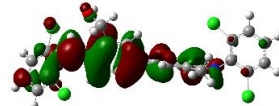
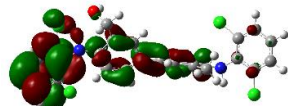

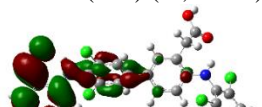
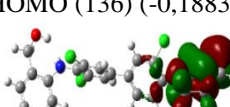
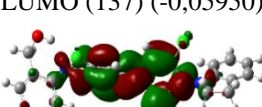
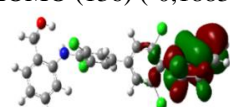
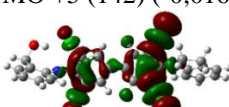
Figura 4. 1. Geometrii optimizate prin DFT ale diclofenacului și ale produselor sale de degradare identificate/propuse.

Tabel 4. 1. Mase moleculare (MW, Da), timpi de retenție HPLC-MS/UV și maxime UV-vis (vezi, de asemenea, Figura 10), logP și momente dipol (teoretice, din geometria optimizată DFT) și maxime UV-vis prezise de TD-DFT pentru diclofenac și pentru produșii de descompunere propuși.

Structura	MW	R _f (min)	logP	Moment de dipol (debye)	Maxime UV-vis (nm) (MS)	Maxime UV-vis (nm) (TD-DFT)
Diclofenac	295	8,76	3,60	0,41	278	286 (0,26)
P1	516	13,41	7,76	1,18	317	325 (0,90)
P2	558	14,94	7,84	3,91	315 (0,85), 395 (0,06)	361 (0,63)
P3	558	16,17	7,10	4,65	315 (0,85), 395 (0,06)	327 (0,80), 394 (0,09)
P4	514	16,17	7,49	1,60	306 (0,13), 362 (0,03)	361 (0,88)
P5	516	16,79	7,76	0,79	313	303 (0,30)
P6	558	18,78	7,84	3,52	310	358 (0,42)
P7	514	19,06	8,23	2,32	305 (0,57), 384 (0,20)	313 (0,39), 437 (0,01)

În concluzie, degradarea diclofenacului de sodiu a fost evaluată folosind lacaza *Sclerotinia sclerotiorum*. Îndepărtarea aproape completă a diclofenacului (>96%) a avut loc după 30 de ore, când medicamentul a fost adăugat într-un mediu lichid definit. Mecanismul și produsele au fost explorate cu tehnici experimentale completate de calcule TD-DFT. Utilizarea lacazei *S. sclerotiorum* pentru a elimina diclofenacul s-a dovedit a fi simplă și ieftină în comparație cu alte metode care pot fi găsite în literatură. Mai mult, poate fi o alternativă la acele procedee care implică agenți oxidanți puternici, bine cunoscuți pentru dezavantajele lor. Aceasta poate constitui baza pentru protocoale eficiente de curățare a apelor uzate.

Tabel 4. 2. Lungimile de undă (λ , nm), tăriile oscilatorului (OS) și orbitalii cheie cei mai apropiați de regiunea vizibilă a spectrelor UV-vis ale diclofenacului și ale produșilor săi.

Model	λ	OS	Orbital responsabili (energi indicate în eV)	
diclofenac	286	0,2622	HOMO (76) (-0,20412) 	LUMO (77) (-0,02241) 
P1	325	0,9015	HOMO (133) (-0,18640) 	LUMO (134) (-0,02799) 
P2	361	0,6304	HOMO (143) (-0,20570) 	LUMO (144) (-0,06207) 
P3	394	0,0939	HOMO (143) (-0,19962) 	LUMO (144) (-0,06813) 
	327	0,7954	HOMO (143) (-0,32238) 	LUMO +1 (145) (-0,04278) 
P4	361	0,8769	HOMO (136) (-0,19589) 	LUMO (137) (-0,05317) 
P5	303	0,3042	HOMO (133) (-0,20166) 	LUMO (134) (-0,02777) 
P6	358	0,4204	HOMO (143) (-0,20376) 	LUMO (144) (-0,05833) 
P7	437	0,0024	HOMO (136) (-0,18831) 	LUMO (137) (-0,05950) 
	313	0,3858	HOMO (136) (-0,18831) 	LUMO +5 (142) (-0,01650) 

5. Predicția proprietăților UV-vis și fluorescența într-o serie de derivați de fenotiazoni

Fenotiazoniul este un tip de compus care aparține familiei fenotiazinelor. Se caracterizează printr-o structură inelar fenotiazinică cu o grupare de amoniu cuaternară suplimentară atașată. Această grupă cuaternară de amoniu face din fenotiazoniul o moleculă încărcată pozitiv. Prin introducerea de substituenți precum lanțuri N-alchil și/sau inele (hetero)aromate s-au constatat modificări ale proprietăților farmaceutice ale acestor substanțe, prezentând proprietăți antivirale, antimicrobiene, antiinflamatorii, antioxidante sau chiar antitumorale.⁹⁹ Un membru reprezentativ al acestei clase de substanțe este albastrul de metilen, care este un colorant cationic derivat din fenotiazină (3,7-bis(dimetilamino)fenotiazin-5-yl). Având proprietăți utile fotofizice, electrochimice sau biologice, albastrul de metilen poate fi considerat și un compus model pentru analogii care au substituenți atașați la atomii de carbon ai inelelor aromatice periferice.¹⁰⁰ Astfel de derivați au fost folosiți și ca coloranți în cercetarea biologică. În plus, unii derivați de fenotiazoni au demonstrat potențial ca fotosensibilizatori în terapia fotodinamică, o modalitate de tratament pentru anumite tipuri de cancer.¹⁰¹

În această lucrare, am dorit să studiem modul în care substituenții laterali pot fi utilizați pentru a modifica maximele de absorbție și fluorescență pentru a le muta la lungimi de undă mai mari spre domeniul infraroșu apropiat (NIR), în contextul în care colaboratorii noștri experimentali încearcă să proiecteze derivați de albastru de metilen/analogi cu aplicare ca instrumente imagistice pentru chirurgie, sau ca agenți terapeutici, sau ambele (teranostice).

În studiul de față sunt examinate două clase de compuși: una care implică substituenți alifatici la unitatea centrală de fenotiazoni aromatic (Figura 5.1) și una care implică substituenți aromatici.

Pentru clasa alifatică, după cum se vede în tabelul 5.1., în vid toți compușii investigați prezintă un maxim peste 500 nm, cu diferențe foarte mici între modele, în ordinea $F1 (514 \text{ nm}) > 4 > 1 > 3 > 2 \sim F2 > F3 (503 \text{ nm})$. Din punct de vedere al intensității maximelor, compușii prezintă valori foarte apropiate între ei – cu o diferență de 25% între extremele valorilor; ordinul de mărime este $3 > 4 > F3 > 1 > 2 > F2 > F1$. Metoda TD-DFT utilizată aici subestimează lungimea de undă în raport cu datele experimentale, dar este rezonabil de precisă în ceea ce privește elementele calitative (de exemplu, diferențe, ordin de mărime). În cazul de față, se poate

observa diferența extrem de mică dintre compuși atât în ceea ce privește intensitatea maximă, cât și lungimile de undă. Astfel de diferențe sunt la limita de precizie a metodelor DFT.

Efectul solventului asupra maximelor din domeniul vizibil al compușilor este notabil în raport cu sistemul de vid - o deplasare batocromă de aproximativ 30 nm în toate cazurile. Diferențele dintre solvenți sunt de cel mult 3 nm, în ordinea DMSO > etanol > apă. Solventul aduce, de asemenea, o creștere a intensității maximelor, de ~20% pentru seria 1–4 și ceva mai puțin (până la doar 13% pentru F1) în seria F1–F3. Cea mai mare creștere este asigurată de DMSO (22-24%) și cea mai mică de apă (19-20%).

Tabelul 5. 1. permite de asemenea urmărirea naturii maximului în intervalul vizibil pentru compușii studiați. Este, în general, o tranziție HOMO-LUMO, unde cei doi orbitali au localizări clar diferite, deci este o bandă de transfer de sarcină (după cum se poate deduce și din valoarea coeficientului de extincție/puterea oscilatorului, tipică și pentru astfel de benzi). HOMO este localizat predominant pe atomul de sulf și pe cei din apropierea acestuia – până la atomii de azot ai substituenților laterali aminei; pentru sistemele 3 și 4, acești substituenți laterali prezintă heteroatomi suficient de aproape de azot pentru a contribui și la HOMO, ceea ce poate explica de ce 3 și 4 prezintă cele mai lungi lungimi de undă din serie. Orbitalul LUMO reține, de asemenea, componenta de sulf, dar este acum centrat pe restul sistemului fenazionic - și anume atomii care nu au contribuit la HOMO (inclusiv azotul). Natura transferului de sarcină a acestui maxim poate explica, de asemenea, efectul notabil al solventului.

După cum se vede în Tabelul 5. 1., în cazul modelului 1 și modelului 2, unde gruparea -CH₂-OH este în pozițiile 3 și, respectiv, 4, transferul de sarcină are loc între orbitalul HOMO (113) și orbitalul LUMO (114), chiar și atunci când se utilizează solvenți. În vid avem lungimea de undă la 511 nm, dar folosind solvent ajungem în jur de 540 nm. Același lucru se poate observa și în cazul modelelor 2, 3 și 4: în vid avem o lungime de undă la 505 nm, 509 nm și respectiv 513 nm, dar în solvenți lungimea de undă se modifică și se ridică în jur de 540 nm. Excitația electronilor în modelul 3 este de la HOMO (91) la LUMO (92), în timp ce în modelul 4 este de la HOMO (107) la LUMO (108).

Pentru modelele F1, F2, F3 și F4, lungimea de undă în vid este între 503 nm și 514 nm, în solvent (apă) urcând la lungimi de undă între 531 nm și 541 nm. Pentru F1 în vid, excitația este de la HOMO -2 (220) la LUMO (224), în timp ce în apă de la HOMO (223) la LUMO (224). Pentru F2 în vid, excitația este de la HOMO -5 (218) la LUMO (224), în timp ce în apă este de la

HOMO -1 (222) la LUMO (224). În cazul modelului F3, în vid transferul de sarcină este de la HOMO -7 (194) la LUMO (202), în timp ce în apă acest transfer este de la HOMO -1 (200) la LUMO (202). În modelul F4, se observă un salt de la HOMO -6 (211) la LUMO (218) în vid, iar dacă folosim apă ca solvent, excitația este de la HOMO -1 (216) la LUMO (218).

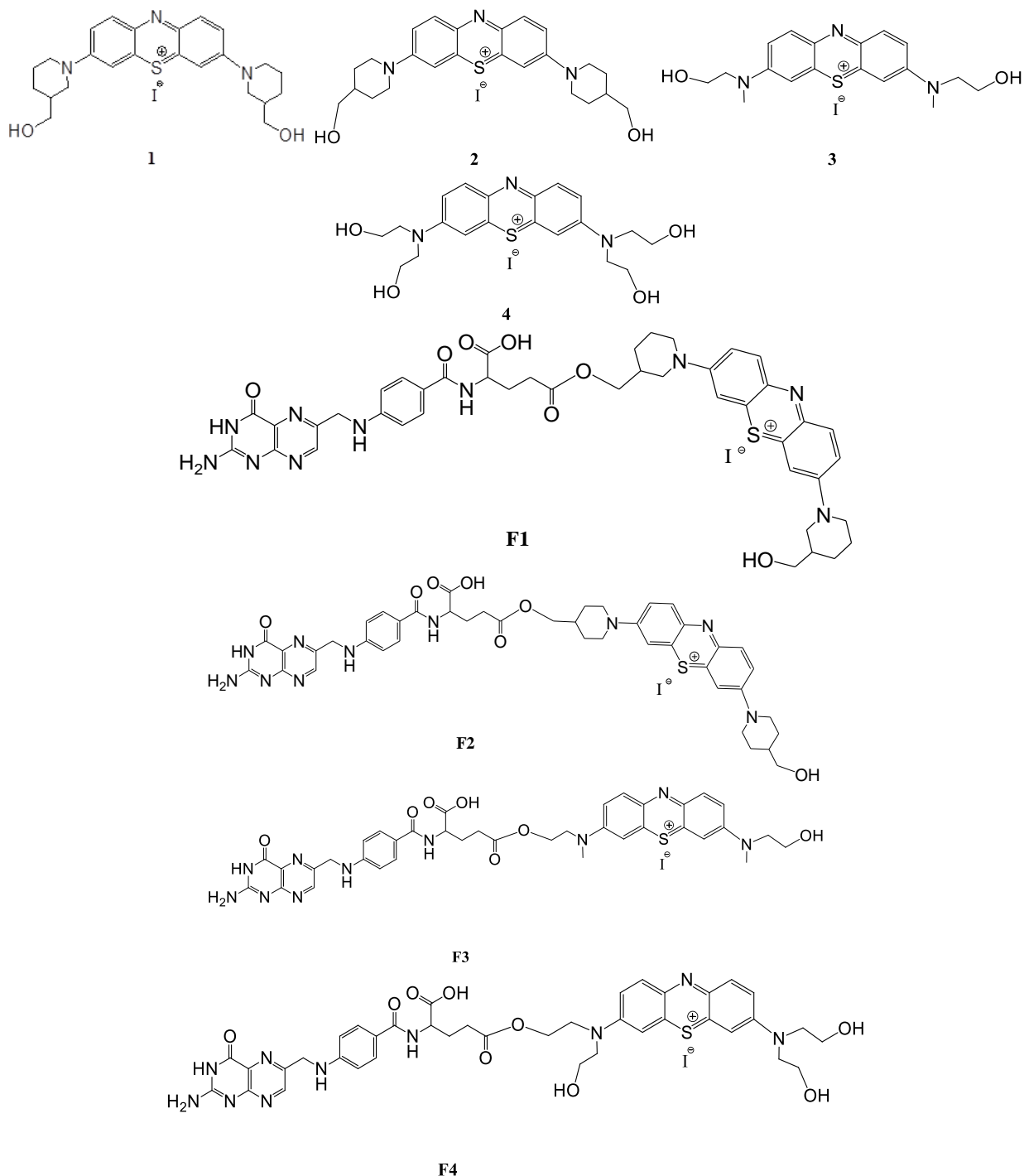
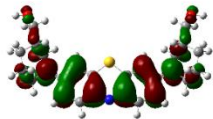

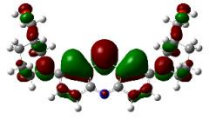
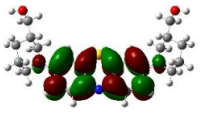
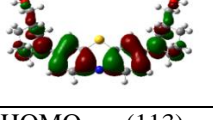
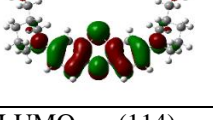

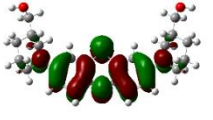
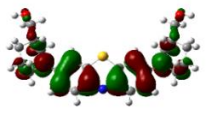

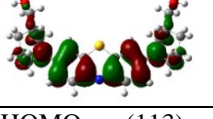
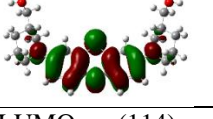
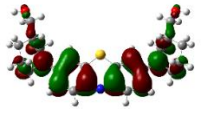

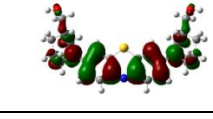
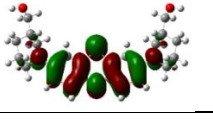


Figura 5. 1. Structuri ale coloranților de fenazationiu investigați (1-4) și a esterilor acidului folic cu coloranți de fenazationiu (F1-F4)

Tabel 5. 1. Caracteristici cheie ale spectrelor TD-DFT ale unor compuși investigați.

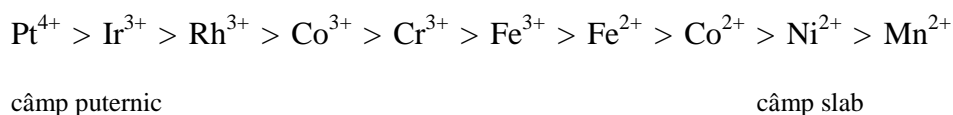
Model	solvent	Lungime de undă (nm)	OS	Tranziție orbitali	Reprezentări orbitali	
1	vid	511	0,9859	HOMO (113) -> LUMO (114) 76,44%	HOMO (113) (-0,31473) 	LUMO (114) (-0,2258) 
				HOMO -1 (112) -> LUMO +1 (115) 11,19%	HOMO -1 (112) (-0,33867) 	LUMO +1 (115) (-0,14836) 
				HOMO (113) <- LUMO (114) 12,36%	HOMO (113) (-0,31473) 	LUMO (114) (-0,2258) 
1	DMSO	544	1,2092	HOMO (113) -> LUMO (114) 100%	HOMO (113) (-0,22232) 	LUMO (114) (-0,13465) 
1	etanol	541	1,1890	HOMO (113) -> LUMO (114) 87,48%	HOMO (113) (-0,22412) 	LUMO (114) (-0,13641) 
				HOMO (113) <- LUMO (114) 12,51%	HOMO (113) (-0,22412) 	LUMO (114) (-0,13641) 
1	H ₂ O	540	1,1783	HOMO (113) -> LUMO (114) 87,35%	HOMO (113) (-0,22150) 	LUMO (114) (-0,13385) 
				HOMO (113) <- LUMO (114) 12,64%	HOMO (113) (-0,22150) 	LUMO (114) (-0,13385) 

O investigație cuprinzătoare TD-DFT a unei serii de derivați de fenazationiu substituiți cu alifatici și aromatici ai albastrului de metilen este raportată în acest capitol. Accentul este pus pe regiunea vizibilă și NIR a spectrului, cu trei aspecte principale de urmat: (1) poziția maximelor de absorbție, cu accent pe identificarea compușilor cu maxime la lungimi de undă mai mari, cu coeficienți de extincție mai mari (2) comportamentul în stare excitată, fie implicit prin utilizarea calculelor verticale, fie în mod explicit prin examinarea geometriilor stărilor excitate, pentru a explora potențialul de fluorescență al compușilor și (3) natura orbitalilor moleculari a tranzițiilor din această regiune (în special cu implicația că astfel de cunoștințe ar permite proiectarea mai simplă/rațională a compușilor cu proprietăți mai bune, cf. itemii 1 și 2 discutați mai sus). Aceste date sunt în prezent partajate cu colaboratorii noștri experimentali, iar aceștia vor prezenta o comparație detaliată cu datele lor. Un acord general și utilitatea predictivă a calculelor au fost notate în ¹⁰², pentru care calculele raportate aici au stat la bază chiar dacă autorul acestei teze nu a fost nominal autor.

6. Evaluarea DFT a seriei spectrochimice

Pe baza rezultatelor spectrelor de absorbție ale complexelor Co(III), în 1938 s-a propus o aranjare a liganzilor, cu liganzi slabi în stânga și liganzi puternici în dreapta, numită seria spectrochimică a liganzilor¹⁰³. Autorii din referința ¹⁰³ au folosit maximele de absorbție electronică în regiunea vizibilă ca aproximație, operând cu interpretarea că excitația electronică are loc în aceste benzi între orbitalii d – și poate oferi apoi o măsură a divizării orbitale în termeni de Δ sau parametri înrudiți.

Geometria complexului, sarcina ionului, liganzii din jurul metalului și natura ionului metalic provoacă scindarea orbitalilor d. Dacă păstrăm constantă geometria complexului și a ligandului, vedem descreșterea divizării în ordinea:



În stânga găsim astfel ioni cu câmp slab, unde diviziunea câmpului cristalin este mică, iar în dreapta găsim ioni cu câmp puternic, unde diviziunea câmpului cristalin este mare. Dacă

păstrăm constantă geometria complexului și a metalului, această împărțire are următoarea formă (de la mic Δ la mare Δ ¹⁰⁴): $\Gamma^- < \text{Br}^- < \text{S}^{2-} < \text{SCN}^-$ (legătură S) $< \text{Cl}^- < \text{NO}_3^- < \text{N}_3^- < \text{F}^- < \text{OH}^- < \text{C}_2\text{O}_4^{2-} < \text{H}_2\text{O} < \text{NCS}^-$ (legătură N) $< \text{CH}_3\text{CN} < \text{py}$ (piridină) $< \text{NH}_3 < \text{en}$ (etilendiamină) $< \text{bipy}$ (2,2'-bipiridină) $< \text{phen}$ (1,10-fenantrolină) $< \text{NO}_2^-$ (legătură N) $< \text{PPh}_3$ (trifenilfosfină) $< \text{CN}^- < \text{CO}$.

Seria spectrochimică de liganzi, așa cum am menționat mai sus, nu este de departe universală. De exemplu, în complecșii de hem feric de-a lungul biologiei, se recunoaște, în general, că complecșii de fluorură sunt întotdeauna cu spin înalt, în timp ce complexe de hidroxid sunt întotdeauna cu spin jos, complexe de azidă sunt de obicei cu spin jos, iar complecșii cu apă sunt în general cu spin înalt, deși uneori pot să fie cu spin jos (de exemplu, în citocromul P450).¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Datele experimentale privind complecșii de hem feric ar sugera astfel o ordine a tăriei ligandului cu hidroxidul mai slab decât apa (în conflict cu seria spectrochimică) sau azida mai slabă decât fluorura (în conflict cu seria spectrochimică). Ar mai apărea conflicte dacă se discută și despre alți liganzi la hem, cum ar fi azotitul sau sulfura.¹⁰⁸⁻¹¹²

O comparație DFT cu seria spectrochimică ar folosi în mod logic la simularea spectrelor UV-vis, pentru a fi comparate cu cele originale din 1938 pe seria respectivă de complexe Co(III).¹⁰³ Simulările acestor spectre pe modele de Co (nu sunt raportate aici), precum și pe modelele de fier raportate aici folosind TD-DFT (neprezentat) nu au dezvăluit, totuși, o modalitate semnificativă de a identifica o bandă din spectrul prezis DFT care s-ar potrivi cu cele experimentale. Astfel, spectrele TD-DFT au prezentat o multitudine de benzi, cu caractere mai degrabă complexe, decât tranzițiile simple d->d așteptate/sperate cu care au fost interpretate datele experimentale din 1938. Este important de menționat că spectrele UV-vis experimentale sunt mai degrabă o aproximație decât o reflectare fidelă a puterii liganzilor. Într-o aproximare rezonabilă, benzile văzute în regiunea vizibilă a spectrului electronic de absorbție pot fi considerate ca fiind datorate tranzițiilor dintre cele două seturi de orbitali d într-un câmp octaedric. Cu toate acestea, așa cum sa ilustrat și în capitolele anterioare, spectrele UV-vis pot fi de fapt mult mai complexe. Pe de altă parte, calculele DFT permit încă două metode directe de evaluare a forțelor relative ale liganzilor: (1) pur și simplu compararea energiei stării de spin jos față de starea de spin înalt într-o serie de complecși în care un singur ligand este înlocuit la rândul său cu oricare dintre liganzii țintă și (2) și mai simplu, comparând pur și simplu energiile

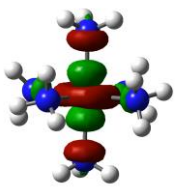
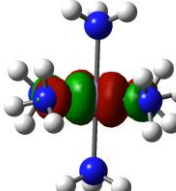
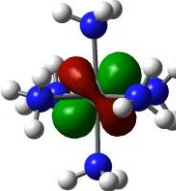
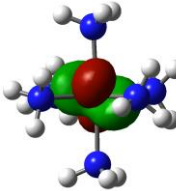
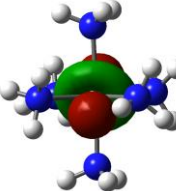
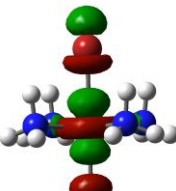
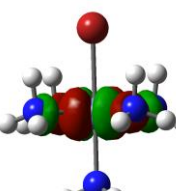
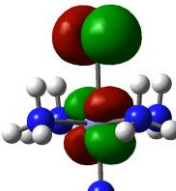
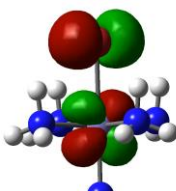
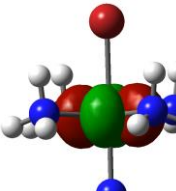
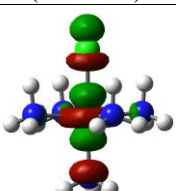
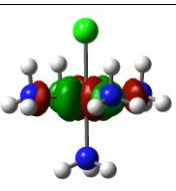
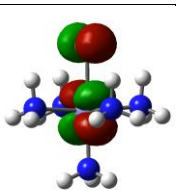
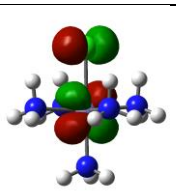
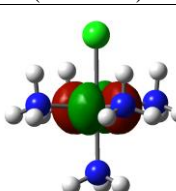
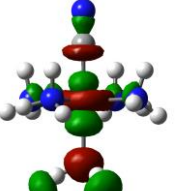
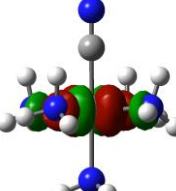
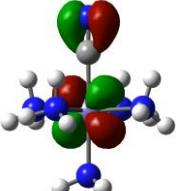
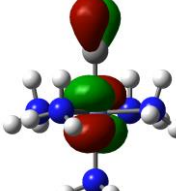
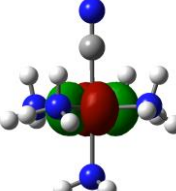
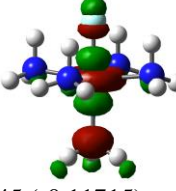
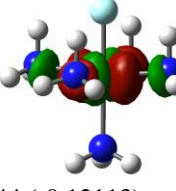
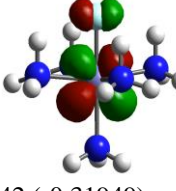
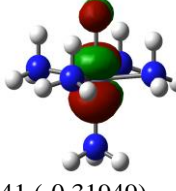
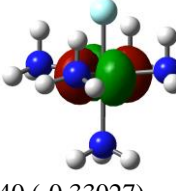
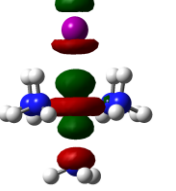
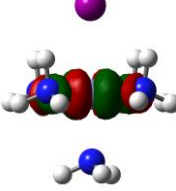
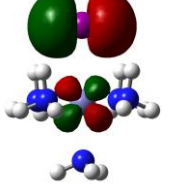
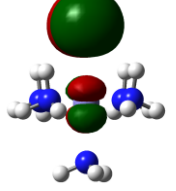
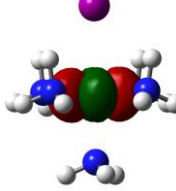
relative ale orbitalilor d din complecșii respectivi. Prin urmare, în această secțiune analiza noastră a seriei spectrochimice se bazează pe acești doi parametri.

Tabelul 6.1 arată energiile calculate ale stărilor de spin înalt și spin jos pentru o serie de modele Fe(II) și diferența de energie dintre acestea (dE), precum și estimări ale parametrului Δ . Pentru acesta din urmă, deoarece niciunul dintre modele nu prezintă simetrie octaedrică perfectă și, prin urmare, seturile de orbitali t_{2g} și e_g nu sunt complet degenerate, sunt propuse două versiuni ale valorilor Δ . Astfel, Δ_a este definită ca diferența dintre energiile mediei aritmetice ale energiilor celor doi orbitali de e_g și media aritmetică a celor trei orbitali t_{2g} . Apoi, Δ_l este definită ca diferența dintre orbitalul cu cea mai mică energie e_g și orbitalul t_{2g} cu cea mai mare energie. Tabelul 6. 2. prezintă orbitalii moleculari luați în considerare pentru aceste calcule Δ .

Tabel 6. 1. Energiile absolute și relative (kcal/mol) pentru structurile Fe(II), ordonate după valorile prezise de calcule, sus fiind cel mai puternic ligand și jos cel mai slab; $dE = E_{\text{spin înalt}} - E_{\text{spin jos}}$; ($\Delta_a = ((d_{x^2-y^2} + d_{z^2})/2) - ((d_{xz} + d_{yz} + d_{xy})/3)$, $\Delta_l = \min(d_{z^2}, d_{x^2-y^2}) - \max(d_{xz}, d_{yz}, d_{xy})$).

	$E_{\text{high spin}}$	$E_{\text{low spin}}$	dE	Δ_a	Δ_l
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-CN}^-$	-1028772.96	-1028768.98	-3.99	0.2041433	0.19968
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-PCH}_3$	-1259700.07	-1259690.37	-9.71	0.2072483	0.20571
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-CH}_3\text{CN}$	-1053654.03	-1053644.00	-10.03	0.213	0.2109
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-Py}$	-1125912.55	-1125901.30	-11.25	0.2016633	0.18425
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-NO}_2^-$	-1099275.50	-1099264.20	-11.30	0.205405	0.20201
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-NO}_3^-$	-1146480.43	-1146468.26	-12.17	0.20691	0.2024
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-Br}^-$	-2585829.37	-2585816.83	-12.54	0.19801	0.18925
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-CH}_3\text{NH}_2$	-1030485.59	-1030472.98	-12.60	0.2092417	0.20852
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_6$	-1005813.75	-1005801.06	-12.69	0.2080317	0.20644
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-SCN}^-$	-1278678.07	-1278664.93	-13.14	0.1960167	0.17705
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-NCS}^-$	-1278687.80	-1278673.06	-14.73	0.17779	0.1594
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-Cl}^-$	-1259324.73	-1259309.54	-15.19	0.200485	0.19416
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-I}^-$	-1157399.17	-1157383.93	-15.24	0.1912183	0.17738
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-F}^-$	-1033205.29	-1033188.67	-16.62	0.2039433	0.19836
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-OH}^-$	-1018110.16	-1018092.46	-17.71	0.1994033	0.18932
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-N}_3^-$	-1073645.08	-1073626.60	-18.48	0.1903467	0.1779
$\text{Fe}^{2+}-(\text{NH}_3)_5\text{-S}^{2-}$	-1220497.49	-1220463.54	-33.94	0.0868067	0.06032

Tabel 6. 2. Orbitali de frontieră cheie și energiile absolute (a.u.) din spectrele DFT ale unor modele Fe(II) (sunt prezentate numărul de orbitali și energiile absolute (a.u.)).

Model	d_z^2	$d_{x^2-y^2}$	d_{xz}	d_{yz}	d_{xy}
Fe ²⁺ - (NH ₃) ₆	 45 (-0.28484)	 44 (-0.28789)	 42 (-0.49433)	 41 (-0.49435)	 40 (-0.49451)
Fe ²⁺ - (NH ₃) ₅ - Br ⁻	 57 (-0.14585)	 58 (-0.13421)	 55 (-0.33510)	 54 (-0.33512)	 53 (-0.34390)
Fe ²⁺ - (NH ₃) ₅ - Cl ⁻	 48 (-0.13868)	 49 (-0.13145)	 46 (-0.33284)	 45 (-0.33285)	 44 (-0.34096)
Fe ²⁺ - (NH ₃) ₅ - CN ⁻	 47 (-0.13245)	 46 (-0.13619)	 44 (-0.33587)	 43 (-0.33588)	 42 (-0.34364)
Fe ²⁺ - (NH ₃) ₅ - F ⁻	 45 (-0.11715)	 44 (-0.12113)	 42 (-0.31949)	 41 (-0.31949)	 40 (-0.33027)
Fe ²⁺ - (NH ₃) ₅ - I ⁻	 52 (-0.15392)	 53 (-0.13635)	 50 (-0.33130)	 49 (-0.33149)	 48 (-0.34627)

În acest capitol, geometriile unei serii de compeceși de Fe(II) și Fe(III) au fost optimizate și am măsurat diferența de energie dintre spin înalt și spin jos și între orbitalii d și am comparat-o cu seria spectrochimică măsurată experimental.

Liganzii pe care îi găsim în seria spectrochimică sunt aranjați în funcție de capacitatea lor de a aranja orbitalii d ai unui ion metalic într-un complex. Acest lucru depinde de mai mulți factori, inclusiv de dimensiunea și încărcarea ligandului. Calculele raportate aici relevă câteva concluzii neașteptate: (1) există foarte puțin acord între calcule și seria spectrochimică cunoscută experimental, (2) seria prezisă din modelele Fe(II) diferă de cele prezise pentru modelele Fe(III) și (3) seria prezisă pe baza diferențelor de energie între stările de spin jos și înalt ale aceluiași complex diferă de seria prezisă pe baza energiilor orbitalilor d din cadrul complexelor cu spin scăzut. Rezultatele acestor studii sugerează necesitatea unei explorări mai aprofundate a problemei, examinând alte metale (într-adevăr, modelele Co(III) sunt urmărite în prezent într-o altă teză de doctorat) și, de asemenea, abordările computaționale (de exemplu alte funcționale, solvatare). Astfel de studii sunt în curs de desfășurare în acest moment.

7. Concluzii

Prezenta teză încearcă să utilizeze instrumentele moderne ale chimiei computaționale pentru a ilustra aplicații pe probleme de interes foarte general, care pot fi traductibile sau identificabile pentru studenții pre-colegii și de la începutul colegiului. Sunt alese patru subiecte pentru explorarea computațională.

La începutul acestei teze, ne-am propus să găsim o clarificare a mecanismului reacției amidon-iod folosind, pe lângă calculele funcționale de densitate dependentă de timp (TD-DFT) și experimentele. Pornind de la ideea că distanța iod-iod în complexul iod-amiloză s-a dovedit experimental a fi de 3,1 Å, folosind aceste date în calculele DFT, am ajuns la concluzia că o unitate $I_2-I_5^-$ ar oferi cea mai bună potrivire cu datele experimentale. În această idee, perechile I_2/I_n^- cu benzi de transfer de sarcină de la I_n^- ($n>3$) σ^* ocupat la orbitalul $I_2 \sigma^*$ gol sunt considerate a fi responsabile în mod rezonabil pentru culoarea albastră.

În capitolul următor a fost extinsă lucrarea anterioară a doctorandei Izabela Irsai referitoare la acidul polilactic, având ca puncte de interes influența interacțiunilor intra și intermoleculare slabe asupra formei sau conformației generale a moleculelor. Studiile anterioare pot pune mai puțin accent pe descrierea stării unghiurilor Φ și Ψ după optimizarea geometriei, așa că cu

ajutorul funcționalului M062x am ajuns la concluzia că geometriile PLA optimizate deviază de la valorile inițiale ale Φ și Ψ . Cu ajutorul calculelor utilizate, sunt propuse două tipuri de organizare a PLA, turnuri β de tip peptidic III și un aranjament specific al PLA (pe baza structurii propuse de DeSantis din datele experimentale) care nu are paralele în secundarul peptidic clasic al structurilor.

În cel de-al treilea capitol al contribuțiilor originale, folosim calcule TD-DFT, care completează datele din experimentele anterioare legate de degradarea diclofenacului sodic, efectuate în prezența lacazei *Sclerotinia sclerotiorum*. Datele colectate au arătat că eliminarea diclofenacului poate fi realizată într-un mod simplu, rapid și ieftin.

Al patrulea capitol urmărește calculele TD-DFT pentru a prezice variațiile de culoare și fluorescență între o serie de compuși organici, cum ar fi derivații de fenazationiu substituiți alifatici și aromatici ai albastrului de metilen. Poziția maximelor de absorbție, comportamentul în stare excitată și natura orbitalilor moleculari ai tranzițiilor din această regiune au fost luate în considerare și analizate.

Al cincilea capitol intră în lumea chimiei metalelor de tranziție, în urma unei analize a seriei spectrochimice folosind calcule DFT și analiza orbitală moleculară. După optimizarea geometriilor compușilor Fe(II) și Fe(III), s-a calculat diferența de energie între spin înalt și spin jos și între orbitalii d și comparată cu seria spectrochimică măsurată experimental. Pe baza datelor colectate, putem concluziona că seria spectrochimică cunoscută experimental și seria spectrochimică propusă prin calcule sunt foarte puțin în acord între ele. Folosind aceste concluzii, sunt propuse studii suplimentare și abordări computaționale.

8. Referințe

- (1) Nelson; David; Michael M. Cox. Principles of Biochemistry. *Principles of Biochemistry*; W.H. Freeman and Company: New York, 2008; Vol. 5th ed.
- (2) Green, M. M.; Blankenhorn, G.; Hart, H. Which Starch Fraction Is Water-Soluble, Amylose or Amylopectin? *J. Chem. Educ.* **1975**, 52 (11), 729. <https://doi.org/10.1021/ed052p729>.
- (3) Katz, J. R. Abhandlungen Zur Physikalischen Chemie Der Stärke Und Der Brotbereitung. *Zeitschrift für Phys. Chemie* **1930**, 150A (1), 37–59. <https://doi.org/10.1515/zpch-1930-15005>.
- (4) Katz, J. R.; Derksen, J. C. Abhandlungen Zur Physikalischen Chemie Der Stärke Und Der Brotbereitung. *Zeitschrift für Phys. Chemie* **1933**, 167A (1), 129–136. <https://doi.org/10.1515/zpch-1933-16714>.
- (5) Bear, R. S. The Significance of the “V” X-Ray Diffraction Patterns of Starches ¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1942**, 64 (6), 1388–1392. <https://doi.org/10.1021/ja01258a043>.
- (6) Meyer, K. H.; Bernfeld, P.; Wolf, E. Recherches Sur l’amidon III. Fractionnement et Purification de l’amylose de Maïs Naturel. *Helv. Chim. Acta* **1940**, 23 (1), 854–864. <https://doi.org/10.1002/hlca.194002301110>.
- (7) Sarko A; Zugenmaier P. Fiber Diffraction Methods. *Am. Chem. Soc. Washingt. DC* **1980**, 141, 459–482.
- (8) Rappenecker G.; Zugenmaier P. *Carbohydr Res.* **1981**, 89, 11–19.
- (9) Murphy V.G.; Zaslow B.; French A.D. *Biopolymers.* **1975**, 14, 1487–1501.
- (10) Brisson J.; Chanzy H.; Winter W.T. *Int J Biol Macromol.* **1991**, 13, 31–39.
- (11) Veregin R.P.; Fyfe C.A.; Marchessault R.H. *Macromolecules.* **1987**, 20, 3007–3012.
- (12) Gidley M.J.; Bociek S.M. *J Am Chem Soc.* **1988**, 110, 3820–3829.
- (13) Imberty, A.; Chanzy, H.; Pérez, S.; Bulèon, A.; Tran, V. The Double-Helical Nature of the Crystalline Part of A-Starch. *J. Mol. Biol.* **1988**, 201 (2), 365–378. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(88\)90144-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(88)90144-1).
- (14) Saenger W. *Inclusion Compounds*; Atwood, J. L., Davies, J. E. D., MacNicol, D. D., Eds.; Academic: London, 1984; Vol. 2.
- (15) Harata, K. *Comprehensive Supramolecular Chemistry*; Atwood, J. L., Davies, J. E. D., MacNicol, D. D., Eds.; Pergamon: Oxford, 1996; Vol. 3.
- (16) J. Brisson; H. Chanzy; W.T. Winter. The Crystal and Molecular Structure of Vh Amylose by Electron Diffraction Analysis. *Int. J. Biol. Macromol.* **1991**, 13, 31–39.
- (17) Cohen, R.; Orlova, Y.; Kovalev, V.; Ungar, Y.; Shimoni, E. Structural and Functional Properties of Amylose Complexes with Genistein. *J. Agric. Food Chem.* 56(11), 4212–4218.
- (18) Sarko, A.; Wu, H.-C. . The Crystal Structures of A-, B- and C-Polymorphs of Amylose and Starch. *Starch-Starke* **1978**, 30(3), 7378.
- (19) Rani, A.; Ali, U. Degree-Based Topological Indices of Polysaccharides: Amylose and Blue

- Starch-Iodine Complex. *J. Chem.* **2021**, *2021*, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/6652014>.
- (20) Landolt, H. Uber Die Zeitdauer Der Reaction Zwischen Jodsaure Und Schwefliger Saure. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1886**, *19*, 1317–1365.
- (21) Gilbert, G. A.; Marriott, J. V. R. Starch-Iodine Complexes. Part I. *Trans. Faraday Soc.* **1948**, *44*, 84. <https://doi.org/10.1039/tf9484400084>.
- (22) Stein, R. S.; Rundle, R. E. On the Nature of the Interaction between Starch and Iodine. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16* (3), 195–207. <https://doi.org/10.1063/1.1746834>.
- (23) Thoma, J. A.; French, D. The Starch-Iodine-Iodide Interaction. Part I. Spectrophotometric Investigations ¹. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82* (16), 4144–4147. <https://doi.org/10.1021/ja01501a004>.
- (24) Nishimura, T.; Yajima, H.; Kubota, S.; Ishii, T.; Endo, R. Polymer Effect on the Iodine Coloring Species Responsible for the Spectroscopic Properties of Amylose-Iodine Complexes. *Kobunshi Ronbunshu* **1990**, *47* (9), 717–725. <https://doi.org/10.1295/koron.47.717>.
- (25) Hiromi, K.; Shibaoka, T.; Ono, S. Kinetic Studies of Amylose-Iodine-Iodide Reaction by Stopped-Flow Method*. *J. Biochem.* **1970**, *68* (2), 205–214. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a129348>.
- (26) Yajima, H.; Nishimura, T.; Ishii, T.; Handa, T. Effect of Concentration of Iodide on the Bound Species of I₂/I⁻3 in the Amylose-Iodine Complex. *Carbohydr. Res.* **1987**, *163* (2), 155–167. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(87\)80179-9](https://doi.org/10.1016/0008-6215(87)80179-9).
- (27) Cronan, C. L.; Schneider, F. W. Cooperativity and Composition of the Linear Amylose-Iodine-Iodide Complex. *J. Phys. Chem.* **1969**, *73* (11), 3990–4004. <https://doi.org/10.1021/j100845a073>.
- (28) Cramer, F.; Herbst, W. Die Lichtabsorption von Jodkettenmolekeln. *Naturwissenschaften* **1952**, *39* (11), 256–256. <https://doi.org/10.1007/BF00630876>.
- (29) Bersohn, R.; Isenberg, I. Metallic Nature of the Starch-Iodine Complex. *J. Chem. Phys.* **1961**, *35* (5), 1640–1643. <https://doi.org/10.1063/1.1732123>.
- (30) Rundle, R. E. The Configuration of Starch and Starch-Iodine Complex. I. The Dichroism of Flow of Starch-Iodine Solutions. *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, *65*, 554–558.
- (31) Rundle, R. E. The Configuration of Starch in the Starch-Iodine Complex. V. Fourier Projections from X-Ray Diagrams. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1769–1772.
- (32) Noltemeyer, M.; Saenger, W. X-Ray Studies of Linear Polyiodide Chains in α -Cyclodextrin Channels and a Model for the Starch-Iodine Complex. *Nature* **1976**, *259* (5545), 629–632. <https://doi.org/10.1038/259629a0>.
- (33) Bluhm, T. L.; Zugenmaier, P. Detailed Structure of the Vh-Amylose-Iodine Complex: A Linear Polyiodide Chain. *Carbohydr. Res.* **1981**, *89*, 1–10.
- (34) Handa, T.; Yajima, H. Conformation of Amylose-Iodine-Iodide Complex in Aqueous Solution. *Biopolymers* **1981**, *20* (10), 2051–2072. <https://doi.org/10.1002/bip.1981.360201003>.
- (35) Swanson, A. M. IV. Relation of the Iodine Color to the Structure. *Stud. Struct. polysaccharides* **1947**, 825–837.

- (36) Swanson, M. A. Studies on the Structure of Polysaccharides. IV. Relation of the Iodine Color to the Structure. *J. Biol. Chem.* **1948**, *172* (2), 825–837.
- (37) Banks, W.; Greenwood, C. T.; Khan, K. M. The Properties of Synthetic Amylopectin with Long External-Chains. *Starch - Stärke* **1970**, *22* (9), 292–296. <https://doi.org/10.1002/star.19700220903>.
- (38) Hirai, M.; Hirai, T.; Ueki, T. Effect of Branching of Amylopectin on Complexation with Iodine as Steric Hindrance. *Polymer (Guildf)*. **1994**, *35* (10), 2222–2225. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(94\)90255-0](https://doi.org/10.1016/0032-3861(94)90255-0).
- (39) Mould, D. L.; Syngé, R. M. Separations of Polysaccharides Related to Starch by Electrokinetic Ultrafiltration in Collodion Membranes. *Biochem. J.* **1954**, *58.4*, 571–600.
- (40) Ono, S.; Tsuchihashi, S.; Kuge, T. On the Starch-Iodine Complex. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 3601–3602.
- (41) Nishimura, T.; Yajima, H.; Kubota, S.; Ishii, T.; Endo, R. Effect of I- Concentration on the Optical Properties of Amylose-Iodine Complexes. *Kobunshi Ronbunshu* **1988**, *45* (12), 945–952. <https://doi.org/10.1295/koron.45.945>.
- (42) Agafonov, A. V.; Vladimirov, A. V.; Volkova, T. V. The Concentration Dependences of the Stability Constants of Iodine-Iodide-Amylose Complexes in Aqueous Solutions of Electrolytes. *Russ. J. Phys. Chem. A* **2004**, *78* (9), 1584–1587.
- (43) NISHIMURA, T.; YAJIMA, H.; ISHII, T.; ENDO, R. Effect of Molecular Weight of Amylose on the Iodine Coloring Species Responsible for the Optical Properties of Amylose-Iodine Complexes. *KOBUNSHI RONBUNSHU* **1989**, *46* (9), 537–544. <https://doi.org/10.1295/koron.46.537>.
- (44) Dintzis, F. R.; Tobin, R.; Beckwith, A. C. Amylose-Iodine Complex. II. Molecular Weight Estimates. *Macromolecules* **1976**, *9* (3), 478–482. <https://doi.org/10.1021/ma60051a018>.
- (45) Calabrese, V. T.; Khan, A. Amylose-Iodine Complex Formation without KI: Evidence for Absence of Iodide Ions within the Complex. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **1999**, *37* (15), 2711–2717. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0518\(19990801\)37:15<2711::AID-POLA4>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0518(19990801)37:15<2711::AID-POLA4>3.0.CO;2-6).
- (46) Varadarajan, S.; Miller, D. J. Catalytic Upgrading of Fermentation-Derived Organic Acids. *Biotechnol. Prog.* **1999**, *15* (5), 845–854. <https://doi.org/10.1021/bp9900965>.
- (47) Abdel-Rahman, M. A.; Tashiro, Y.; Zendo, T.; Sonomoto, K. Improved Lactic Acid Productivity by an Open Repeated Batch Fermentation System Using *Enterococcus Mundtii* QU 25. *RSC Adv.* **2013**, *3* (22), 8437. <https://doi.org/10.1039/c3ra00078h>.
- (48) Abdel-Rahman, M. A.; Tashiro, Y.; Sonomoto, K. Lactic Acid Production from Lignocellulose-Derived Sugars Using Lactic Acid Bacteria: Overview and Limits. *J. Biotechnol.* **2011**, *156* (4), 286–301. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.06.017>.
- (49) Li, G.; Zhao, M.; Xu, F.; Yang, B.; Li, X.; Meng, X.; Teng, L.; Sun, F.; Li, Y. Synthesis and Biological Application of Polylactic Acid. *Molecules* **2020**, *25* (21), 5023. <https://doi.org/10.3390/molecules25215023>.
- (50) Irsai, I.; Majdik, C.; Lupan, A.; Silaghi-Dumitrescu, R. Secondary Structure Elements in Polylactic Acid Models. *J. Math. Chem.* **2012**, *50* (4), 703–733.

- (51) Irsai, I.; Lupan, A.; Majdik, C.; Silaghi-Dumitrescu, R. Computational Investigation of Spectroscopic Parameters in Putative Secondary Structure Elements for Polylactic Acid and Comparison with Experiment. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2017**, *62* (4), 495–513. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2017.4.42>.
- (52) Irsai, I.; Brânzanic, A. M. V.; Silaghi-Dumitrescu, R. Polylactic Acid Interactions with Bioceramic Surfaces. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2021**, *66* (3), 107–121. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2021.3.06>.
- (53) Irsai, I.; Pesek, S. Z.; Silaghi-Dumitrescu, R. POLYLACTIC ACID INTER-CHAIN INTERACTIONS. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Chem.* **2022**, *67* (4), 47–72.
- (54) Scholer, D. W.; Ku, E. C.; Boettcher, I.; Schweizer, A. Pharmacology of Diclofenac Sodium. *Am. J. Med.* **1986**, *80* (4 SUPPL. 2), 34–38. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(86\)90077-X](https://doi.org/10.1016/0002-9343(86)90077-X).
- (55) Al-Nimer, M. S. M.; Hameed, H. G.; Mahmood, M. M. Antiproliferative Effects of Aspirin and Diclofenac against the Growth of Cancer and Fibroblast Cells: In Vitro Comparative Study. *Saudi Pharm. J.* **2015**, *23* (5), 483–486. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.01.002>.
- (56) Yilmaz, B.; Asci, A.; Palabiyik, S. S. HPLC Method for Determination of Diclofenac in Human Plasma and Its Application to a Pharmacokinetic Study in Turkey. *J. Chromatogr. Sci.* **2011**, *49* (6), 422–427. <https://doi.org/10.1093/chrscl/49.6.422>.
- (57) Lauer, B.; Tuschl, G.; Kling, M.; Mueller, S. O. Species-Specific Toxicity of Diclofenac and Troglitazone in Primary Human and Rat Hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* **2009**, *179* (1), 17–24. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2008.10.031>.
- (58) Zi, J.; Liu, D.; Ma, P.; Huang, H.; Zhu, J.; Wei, D.; Yang, J.; Chen, C. Effects of CYP2C9*3 and CYP2C9*13 on Diclofenac Metabolism and Inhibition-Based Drug-Drug Interactions. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **2010**, *25* (4), 343–350. <https://doi.org/10.2133/dmpk.DMPK-10-RG-009>.
- (59) Schwaiger, J.; Ferling, H.; Mallow, U.; Wintermayr, H.; Negele, R. D. Toxic Effects of the Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Diclofenac. Part I: Histopathological Alterations and Bioaccumulation in Rainbow Trout. *Aquat. Toxicol.* **2004**, *68* (2), 141–150. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.014>.
- (60) Saravanan, M.; Hur, J. H.; Arul, N.; Ramesh, M. Toxicological Effects of Clofibric Acid and Diclofenac on Plasma Thyroid Hormones of an Indian Major Carp, *Cirrhinus Mrigala* during Short and Long-Term Exposures. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **2014**, *38* (3), 948–958. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.10.013>.
- (61) Gröner, F.; Ziková, A.; Kloas, W. Effects of the Pharmaceuticals Diclofenac and Metoprolol on Gene Expression Levels of Enzymes of Biotransformation, Excretion Pathways and Estrogenicity in Primary Hepatocytes of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* **2015**, *167*, 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.09.003>.
- (62) Chae, J. P.; Park, M. S.; Hwang, Y. S.; Min, B. H.; Kim, S. H.; Lee, H. S.; Park, M. J. Evaluation of Developmental Toxicity and Teratogenicity of Diclofenac Using *Xenopus* Embryos. *Chemosphere* **2015**, *120*, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.063>.
- (63) Zloh, M.; Perez-Diaz, N.; Tang, L.; Patel, P.; Mackenzie, L. S. Evidence That Diclofenac and Celecoxib Are Thyroid Hormone Receptor Beta Antagonists. *Life Sci.* **2016**, *146*, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.013>.

- (64) Mot, A. C.; Silaghi-Dumitrescu, R. Laccases: Complex Architectures for One-Electron Oxidations. *Biochem. Biokhimiia* **2012**, *77* (12), 1395–1407. <https://doi.org/10.1134/S0006297912120085>.
- (65) Mayer, A. M.; Staples, R. C. Laccase: New Functions for an Old Enzyme. *Phytochemistry*. 2002, pp 551–565. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(02\)00171-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(02)00171-1).
- (66) Wang, J.; Feng, J.; Jia, W.; Chang, S.; Li, S.; Li, Y. Lignin Engineering through Laccase Modification: A Promising Field for Energy Plant Improvement. *Biotechnology for Biofuels*. 2015, p 145. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0331-y>.
- (67) Coman, C.; Mot, A. C.; Gal, E.; Parvu, M.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Moț, A. C.; Gal, E.; Pârvu, M.; Silaghi-Dumitrescu, R. Laccase Is Upregulated via Stress Pathways in the Phytopathogenic Fungus *Sclerotinia Sclerotiorum*. **2013**, *117* (7–8), 528–539.
- (68) Mot, A. C.; Coman, C.; Hadade, N.; Damian, G.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Heering, H. “Yellow” Laccase from *Sclerotinia Sclerotiorum* Is a Blue Laccase That Enhances Its Substrate Affinity by Forming a Reversible Tyrosyl-Product Adduct. *PLoS One* **2020**, *15* (1), : e0225530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225530>.
- (69) Mot, A. C.; Pârvu, M.; Damian, G.; Irimie, F. D. D.; Darula, Z.; Medzihradzky, K. F. K. F.; Brem, B.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Parvu, M.; Damian, G.; Irimie, F. D. D.; Darula, Z.; Medzihradzky, K. F. K. F.; Brem, B.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Moț, A. C.; Pârvu, M.; Damian, G.; Irimie, F. D. D.; Darula, Z.; Medzihradzky, K. F. K. F.; Brem, B.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Mot, A. C.; Pârvu, M.; Damian, G.; Irimie, F. D. D.; Darula, Z.; Medzihradzky, K. F. K. F.; Brem, B.; Silaghi-Dumitrescu, R. A “Yellow” Laccase with “Blue” Spectroscopic Features, from *Sclerotinia Sclerotiorum*. *Process Biochem.* **2012**, *47* (6), 968–975. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.03.006>.
- (70) Ihssen, J.; Schubert, M.; Thöny-Meyer, L.; Richter, M. Laccase Catalyzed Synthesis of Iodinated Phenolic Compounds with Antifungal Activity. *PLoS One* **2014**, *9* (3), e89924. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089924>.
- (71) Palli, L.; Castellet-Rovira, F.; Pérez-Trujillo, M.; Caniani, D.; Sarrà-Adroguer, M.; Gori, R. Preliminary Evaluation of *Pleurotus Ostreatus* for the Removal of Selected Pharmaceuticals from Hospital Wastewater. *Biotechnol. Prog.* **2017**, *33* (6), 1529–1537. <https://doi.org/10.1002/btpr.2520>.
- (72) Lonappan, L.; Rouissi, T.; Laadila, M. A.; Brar, S. K.; Hernandez Galan, L.; Verma, M.; Surampalli, R. Y. Agro-Industrial-Produced Laccase for Degradation of Diclofenac and Identification of Transformation Products. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2017**, *5* (7), 5772–5781. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b00390>.
- (73) Pylypchuk, I. V.; Kessler, V. G.; Seisenbaeva, G. A. Simultaneous Removal of Acetaminophen, Diclofenac, and Cd(II) by *Trametes Versicolor* Laccase Immobilized on Fe₃O₄/SiO₂-DTPA Hybrid Nanocomposites. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **2018**, *6* (8), 9979–9989. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b01207>.
- (74) Chapple, A.; Nguyen, L. N.; Hai, F. I.; Dosseto, A.; Rashid, M. H. O.; Oh, S.; Price, W. E.; Nghiem, L. D. Impact of Inorganic Salts on Degradation of Bisphenol A and Diclofenac by Crude Extracellular Enzyme from *Pleurotus Ostreatus*. *Biocatal. Biotransformation* **2019**, *37* (1), 10–17. <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1415332>.

- (75) Stadlmair, L. F.; Grosse, S.; Letzel, T.; Drewes, J. E.; Grassmann, J. Comprehensive MS-Based Screening and Identification of Pharmaceutical Transformation Products Formed during Enzymatic Conversion. *Anal. Bioanal. Chem.* **2019**, *411* (2), 339–351. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1442-7>.
- (76) Lonappan, L.; Rouissi, T.; Liu, Y.; Brar, S. K.; Surampalli, R. Y. Removal of Diclofenac Using Microbiochar Fixed-Bed Column Bioreactor. *J. Environ. Chem. Eng.* **2019**, *7* (1), 102894. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102894>.
- (77) Alharbi, S. K.; Nghiem, L. D.; van de Merwe, J. P.; Leusch, F. D. L.; Asif, M. B.; Hai, F. I.; Price, W. E. Degradation of Diclofenac, Trimethoprim, Carbamazepine, and Sulfamethoxazole by Laccase from *Trametes Versicolor*: Transformation Products and Toxicity of Treated Effluent. *Biocatal. Biotransformation* **2019**, *37* (6), 399–408. <https://doi.org/10.1080/10242422.2019.1580268>.
- (78) Ben Younes, S.; Ben Khedher, S.; Zhang, Y.; Geissen, S. U.; Sayadi, S. Laccase from *Scytalidium Thermophilum*: Production Improvement, Catalytic Behavior and Detoxifying Ability of Diclofenac. *Catal. Letters* **2019**, 1833–1844. <https://doi.org/10.1007/s10562-019-02771-1>.
- (79) Apriceno, A.; Astolfi, M. L.; Girelli, A. M.; Scuto, F. R. A New Laccase-Mediator System Facing the Biodegradation Challenge: Insight into the NSAIDs Removal. *Chemosphere* **2019**, *215*, 535–542. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.086>.
- (80) Zdarta, J.; Jankowska, K.; Wyszowska, M.; Kijewska-Gawrońska, E.; Zgoła-Grześkowiak, A.; Pinelo, M.; Meyer, A. S.; Moszyński, D.; Jesionowski, T. Robust Biodegradation of Naproxen and Diclofenac by Laccase Immobilized Using Electrospun Nanofibers with Enhanced Stability and Reusability. *Mater. Sci. Eng. C* **2019**, *103*, 109789. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109789>.
- (81) Kasonga, T. K.; Coetzee, M. A. A.; Kamika, I.; Momba, M. N. B. Assessing a Co-Culture Fungal Granule Ability to Remove Pharmaceuticals in a Sequencing Batch Reactor. *Environ. Technol. (United Kingdom)* **2020**. <https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1847204>.
- (82) Camarillo Ravelo, D.; Loera Corral, O.; González-Martínez, I.; Chan Cupul, W.; Rodríguez Nava, C. O. Evaluation of Bezafibrate, Gemfibrozil, Indomethacin, Sulfamethoxazole, and Diclofenac Removal by Ligninolytic Enzymes. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **2020**, *50* (6), 592–597. <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1721532>.
- (83) Bankole, P. O.; Adekunle, A. A.; Jeon, B. H.; Govindwar, S. P. Novel Cobiomass Degradation of NSAIDs by Two Wood Rot Fungi, *Ganoderma Applanatum* and *Laetiporus Sulphureus*: Ligninolytic Enzymes Induction, Isotherm and Kinetic Studies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2020**, *203*, 110997. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110997>.
- (84) Maryšková, M.; Schaabová, M.; Tománková, H.; Novotný, V.; Rysová, M. Wastewater Treatment by Novel Polyamide/Polyethylenimine Nanofibers with Immobilized Laccase. *Water (Switzerland)* **2020**, *12* (2), 588. <https://doi.org/10.3390/w12020588>.
- (85) Asif, M. B.; Van De Merwe, J. P.; Leusch, F. D. L.; Pramanik, B. K.; Price, W. E.; Hai, F. I. Elucidating the Performance of an Integrated Laccase- and Persulfate-Assisted Process for Degradation of Trace Organic Contaminants (TrOCs). *Environ. Sci. Water Res. Technol.* **2020**, *6* (4), 1069–1082. <https://doi.org/10.1039/c9ew01022j>.
- (86) Dalecka, B.; Juhna, T.; Rajarao, G. K. Constructive Use of Filamentous Fungi to Remove Pharmaceutical Substances from Wastewater. *J. Water Process Eng.* **2020**, *33*, 100992.

<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.100992>.

- (87) Hultberg, M.; Ahrens, L.; Golovko, O. Use of Lignocellulosic Substrate Colonized by Oyster Mushroom (*Pleurotus Ostreatus*) for Removal of Organic Micropollutants from Water. *J. Environ. Manage.* **2020**, *272*, 111087. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111087>.
- (88) Primožič, M.; Kravanja, G.; Knez, Ž.; Crnjac, A.; Leitgeb, M. Immobilized Laccase in the Form of (Magnetic) Cross-Linked Enzyme Aggregates for Sustainable Diclofenac (Bio)Degradation. *J. Clean. Prod.* **2020**, *275*, 124121. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124121>.
- (89) Neelkant, K. S.; Shankar, K.; Jayalakshmi, S. K.; Sreeramulu, K. Purification, Biochemical Characterization, and Facile Immobilization of Laccase from *Sphingobacterium Ksn-11* and Its Application in Transformation of Diclofenac. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2020**, *192* (3), pages831–844. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03371-1>.
- (90) Horn, C.; Pospiech, D.; Allertz, P. J.; Müller, M.; Salchert, K.; Hommel, R. Chemical Design of Hydrogels with Immobilized Laccase for the Reduction of Persistent Trace Compounds in Wastewater. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2021**, *3* (5), 2823–2834. <https://doi.org/10.1021/acsapm.1c00380>.
- (91) Maryskova, M.; Linhartova, L.; Novotny, V.; Rysova, M.; Cajthaml, T.; Sevcu, A. Laccase and Horseradish Peroxidase for Green Treatment of Phenolic Micropollutants in Real Drinking Water and Wastewater. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2021**, *28*, 31566–31574. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12910-0>.
- (92) Apriceno, A.; Silvestro, I.; Girelli, A.; Francolini, I.; Pietrelli, L.; Piozzi, A. Preparation and Characterization of Chitosan-Coated Manganese-Ferrite Nanoparticles Conjugated with Laccase for Environmental Bioremediation. *Polymers (Basel)*. **2021**, *13* (9), 1453. <https://doi.org/10.3390/polym13091453>.
- (93) Masjoudi, M.; Gogoli, M.; Ghobadi Nejad, Z.; Sadeghzadeh, S.; Borghei, S. M. Pharmaceuticals Removal by Immobilized Laccase on Polyvinylidene Fluoride Nanocomposite with Multi-Walled Carbon Nanotubes. *Chemosphere* **2021**, *263*, 128043. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128043>.
- (94) Chong, M. N.; Jin, B.; Chow, C. W. K.; Saint, C. Recent Developments in Photocatalytic Water Treatment Technology: A Review. *Water Research*. 2010, pp 2997–3027. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.02.039>.
- (95) Ternes, T. A.; Meisenheimer, M.; McDowell, D.; Sacher, F.; Brauch, H. J.; Haist-Gulde, B.; Preuss, G.; Wilme, U.; Zulei-Seibert, N. Removal of Pharmaceuticals during Drinking Water Treatment. *Environ. Sci. Technol.* **2002**, *36* (17), 3855–3863. <https://doi.org/10.1021/es015757k>.
- (96) Ternes, T. A.; Stüber, J.; Herrmann, N.; McDowell, D.; Ried, A.; Kampmann, M.; Teiser, B. Ozonation: A Tool for Removal of Pharmaceuticals, Contrast Media and Musk Fragrances from Wastewater? *Water Res.* **2003**, *37* (8), 1976–1982. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00570-5](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00570-5).
- (97) Magureanu, M.; Piroi, D.; Mandache, N. B.; David, V.; Medvedovici, A.; Parvulescu, V. I. Degradation of Pharmaceutical Compound Pentoxifylline in Water by Non-Thermal Plasma Treatment. *Water Res.* **2010**, *44* (11), 3445–3453. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.03.020>.
- (98) Magureanu, M.; Piroi, D.; Mandache, N. B.; David, V.; Medvedovici, A.; Bradu, C.; Parvulescu,

- V. I. Degradation of Antibiotics in Water by Non-Thermal Plasma Treatment. *Water Res.* **2011**, *45* (11), 3407–3416. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.03.057>.
- (99) Gopi, C.; Dhanaraju, M. D. Recent Progress in Synthesis, Structure and Biological Activities of Phenothiazine Derivatives. *Rev. J. Chem.* **2019**, *9* (2), 95–126. <https://doi.org/10.1134/S2079978019020018>.
- (100) Padnya, P. L.; Khadieva, A. I.; Stoikov, I. I. Current Achievements and Perspectives in Synthesis and Applications of 3,7-Disubstituted Phenothiazines as Methylene Blue Analogues. *Dye. Pigment.* **2023**, *208*, 110806. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2022.110806>.
- (101) Gal, M.; Turza, A.; Stoean, B.; Gaina, L.; Cristea, C.; Gal, E.; Lovasz, T.; Porumb, D.; Silaghi-Dumitrescu, L. Alternative Procedures for the Green Synthesis of 3,7-Bis(N,N-(2-Hydroxyethyl)Amino)Phenothiazinium Dye. *Stud. Univ. Babeş-Bolyai Chem.* **2022**, *67* (4), 303–314. <https://doi.org/10.24193/subbchem.2022.4.20>.
- (102) Stoean, B.; Gaina, L.; Cristea, C.; Silaghi-Dumitrescu, R.; Branzanic, A. M. V.; Focsan, M.; Fischer-Fodor, E.; Tigu, B.; Moldovan, C.; Cegan, A. D.; Achimas-Cadariu, P.; Astilean, S.; Silaghi-Dumitrescu, L. New Methylene Blue Analogues with N-Piperidiny-Carbinol Units: Synthesis, Optical Properties and in Vitro Internalization in Human Ovarian Cancer Cells. *Dye. Pigment.* **2022**, 110460. <https://doi.org/10.1016/J.DYEPIG.2022.110460>.
- (103) Tsuchida, R. Absorption Spectra of Co-Ordination Compounds. I. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1938**, *13* (5), 388–400. <https://doi.org/10.1246/bcsj.13.388>.
- (104) *No Title.*
https://chem.libretexts.org/Courses/Saint_Marys_College_Notre_Dame_IN/CHEM_342%3A_Bio_inorganic_Chemistry/Readings/Purgatory/Chapter_3%3A_Introduction_to_Advanced_Bonding_Theories/3.2_Ligand_Field_Theory/B._Ligand_Field_Theory/B.2._Spectrochemical_Series.
- (105) Silaghi-Dumitrescu, R.; Silaghi-Dumitrescu, I. Hemes Revisited by Density Functional Approaches . 1 The Axial Ligand and the Dioxygen-Peroxo Chemistry. *Rev. Roum. Chim.* **2004**, *49*, 257–268.
- (106) Silaghi-Dumitrescu, R. *Metalele În Sistemele Vii*; Presa Universitara Clujeana: Cluj-Napoca, Romania, 2010.
- (107) Attia, A. A. A.; Lupan, A.; Silaghi-Dumitrescu, R. Spin State Preference and Bond Formation/Cleavage Barriers in Ferrous-Dioxygen Heme Adducts: Remarkable Dependence on Methodology. *RSC Adv.* **2013**, *3* (48), 26194–26204. <https://doi.org/10.1039/c3ra45789c>.
- (108) Silaghi-Dumitrescu, R.; Svistunenko, D. A. A.; Cioloboc, D.; Bischin, C.; Scurtu, F.; Cooper, C. E. E. Nitrite Binding to Globins: Linkage Isomerism, EPR Silence and Reductive Chemistry. *Nitric Oxide - Biol. Chem.* **2014**, *42*, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2014.08.007>.
- (109) Silaghi-Dumitrescu, R.; Uta, M. M.; Makarov, S. V. Nitrite Linkage Isomerism in Hemes and Related Complexes - Modulation by Metal, Oxidation State, Macrocycle, and Medium Polarity. *Rev. Roum. Chim.* **2010**, *55* (11–12).
- (110) Silaghi-Dumitrescu, R. Linkage Isomerism in Nitrite Reduction by Cytochrome Cd1 Nitrite Reductase. *Inorg. Chem.* **2004**, *43* (12), 3715–3718. <https://doi.org/10.1021/ic035403p>.

- (111) Mot, A. C.; Bischin, C.; Damian, G.; Attia, A. A. A.; Gal, E.; Dina, N.; Leopold, N.; Silaghi-Dumitrescu, R. Fe(III) – Sulfide Interaction in Globins: Characterization and Quest for a Putative Fe(IV)-Sulfide Species. *J. Inorg. Biochem.* **2018**, *179*, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.10.015>.
- (112) Mot, A. C.; Puscas, C.; Dorneanu, S. A.; Silaghi-Dumitrescu, R. EPR Detection of Sulfanyl Radical during Sulfhemoglobin Formation – Influence of Catalase. *Free Radic. Biol. Med.* **2019**, *137*, 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.04.034>.