



ACADEMIA ROMÂNĂ
Institutul de Chimie Fizică „Ilie Murgulescu”

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**STUDIUL STABILITĂȚII TERMODINAMICE A UNOR STRUCTURI MOLECULARE
DE TIPUL LIGAND-CICLODEXTRINĂ. ASPECTE STRUCTURALE ȘI MORFOLOGICE
CORELATE CU DATE TERMODINAMICE.**

Coordonator Științific,

CS I Dr. Tănăsescu Speranța Valeria

Doctorand,

Neacșu Dana-Andreea

BUCUREȘTI

2018

Cuprins	1
I. Stadiul actual al cercetărilor în domeniu	6
1. Introducere	7
2. Aspecte teoretice legate de termodinamica echilibrelor de fază în sisteme de tip „ligand-ciclodextrină”	11
2.1 Legea fazelor	11
2.2 Funcții termodinamice pentru transformări de fază în sistemele moleculă oaspete –ciclodextrină	11
2.3 Condiții de echilibru între faze	12
2.4 Teoria termodinamică a tranzițiilor de fază de ordinul I	13
2.5 Termodinamica echilibrelor de fază în sisteme cu un component	14
2.6 Termodinamica echilibrelor de fază în sisteme multicomponente	15
3. Stadiul actual al cercetărilor în domeniul termodinamicii compușilor de incluziune cu ciclodextrine	18
3.1 Aspecte legate de caracterizarea ciclodextrinelor	18
3.1.1 Generalități privind, structura și proprietățile ciclodextrinelor	18
3.2 Corelații între structura și termodinamica complexării compușilor	22
3.2.1 Interacții elementare implicate în termodinamica stabilității complecșilor	23
3.2.2 Factori sterici implicați în fenomenul de incluziune	24
3.2.2.1 Efectul structurii ligandului	24
3.2.2.2 Efectul cavității ciclodextrinei	25
3.2.2.3 Efectul funcționalizării cavității ciclodextrinei	25
3.2.3 Contribuții entalpice și entropice	26
3.2.3.1 Efectul de compensare entalpie-entropie	26
3.2.4 Influența mediului de reacție asupra termodinamicii complexării	27
3.3 Metode de preparare utilizate în obținerea compușilor de incluziune	28
3.4 Aplicații. Utilizări ale ciclodextrinelor și ale complecșilor ligand-ciclodextrină	30
II. Metode de caracterizare experimentală	33
4. Tehnici de studiu utilizate pentru caracterizarea complecșilor de incluziune	34
4.1 Calorimetrie diferențială dinamică (DSC) și termogravimetrie (TG)	34
4.1.1 Determinarea gradului relativ de cristalinătate (RDC)	38
4.1.2 Determinarea purității substanțelor	38

4.2 Titrare calorimetrică izotermă (ITC)	39
4.3 Tehnici experimentale de analiză spectrală și morfologică	41
4.3.1 Spectroscopie de absorbție în domeniul UV-Vis	41
4.3.1.1 Determinarea stoechiometriei	41
4.3.1.2 Determinarea constantei de legare	41
4.3.1.3 Obținerea parametrilor termodinamici din date de spectroscopie UV-Vis utilizând analiză van't Hoff	42
4.3.2 Spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR)	43
4.3.3 Microscopie electronică de baleiaj (SEM)	44
4.4 Alte metode de studiu utilizate în caracterizarea probelor	44
4.4.1 Calcule de chimie cuantică (QC)	44
4.4.2 Măsurători de pH	44
III. Contribuții originale la caracterizarea sistemelor de tipul ligand-ciclodextrină	45
5. Caracterizarea termoanalitică a ciclodextrinelor utilizate în sinteza complexelor	46
5.1 Studiul DSC și TG/DTG al α CD, β CD, HP α CD, HP β CD, γ CD	46
5.2 Concluzii	58
6. Studiul comparativ al complexelor de incluziune ai uracilului și 5-fluorouracilului cu ciclodextrinele	60
6.1 Considerații generale. Importanța studiului.	60
6.2 Detalii experimentale și rezultatele obținute din măsurătorile UV-Vis	61
6.2.1 Materiale și modul de sinteză a complexelor de incluziune	61
6.2.2 Determinarea stoechiometriei complexelor de incluziune de tipul ciclodextrină - uracil și ciclodextrină - 5-fluorouracil prin măsurători de spectroscopie UV-Vis	62
6.3 Studiul experimental al complexelor de incluziune de tipul ciclodextrină - uracil și ciclodextrină - 5-fluorouracil, în stare solidă	64
6.3.1 Studiul termoanalitic al complexelor de incluziune dintre uracil/ 5-fluorouracil și ciclodextrine	64
6.3.1.1 Rezultate experimentale obținute prin termogravimetrie (TG/DTG)	64
6.3.1.2 Rezultate experimentale obținute prin calorimetrie diferențială dinamică (DSC)	68
6.3.2 Caracterizarea structurală și morfologică a componentelor puri și a complexelor de incluziune	73
6.3.2.1 Analiză rezultatelor obținute prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR)	73

6.3.2.2 Caracterizarea morfologică prin microscopie electronică cu baleiaj (SEM)	76
6.4 Studiul teoretic al complexșilor de incluziune de tipul ciclodextrină - uracil și ciclodextrină - 5 - fluorouracil	78
6.4.1 Evaluarea complexșilor de incluziune pe baza calculelor de chimie cuantică	78
6.5 Concluzii	88
7. Compușii de incluziune ai ciclodextrinelor cu stereoizomerii L- și D- ai alfa-aminoacizilor	90
7.1 Considerații generale. Importanța studiului	90
7.2 Materiale și modul de sinteză a complexșilor de incluziune	92
7.3 Studiul termoanalitic al aminoacizilor puri și al complexșilor de incluziune dintre izomerii optici ai argininei, histidinei, triptofanului cu ciclodextrine	94
7.3.1 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai argininei și ciclodextrine	94
7.3.2 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai histidinei și ciclodextrine	96
7.3.3 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai triptofanului și ciclodextrine	99
7.3.4 Analiza DSC a aminoacizilor puri, utilizați în sinteza complexșilor formați cu ciclodextrine	102
7.3.5 Rezultate experimentale obținute prin DSC pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai argininei și ciclodextrine	104
7.3.6 Rezultate experimentale obținute prin DSC pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai histidinei și ciclodextrine	108
7.3.7 Rezultate experimentale obținute prin DSC pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai triptofanului și ciclodextrine	111
7.4 Caracterizarea structurală și morfologică a complexșilor de incluziune dintre izomerii optici ai argininei, histidinei, triptofanului și ciclodextrine	114
7.4.1 Analiza rezultatelor obținute prin FT-IR pentru complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai argininei, histidinei, triptofanului și ciclodextrine	114
7.4.2 Caracterizarea morfologica prin SEM a complexșii de incluziune dintre izomerii optici ai argininei, histidinei, triptofanului și ciclodextrine	119
7.5 Corelații între termodinamica, structura și morfologia complexșilor de incluziune	122
7.6 Concluzii	124
8. Studiul interacției dintre ciconină și ciclodextrine	125

8.1 Considerații generale. Importanța studiului.	125
8.2 Metoda de sinteză a probelor	127
8.3 Studiul termooanalitic al complexșilor de incluziune dintre cinconină și ciclodextrine	128
8.3.1 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru cinconină pură	129
8.3.2 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și beta-ciclodextrină, la diferite rapoarte molare	130
8.3.3 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrină, la diferite rapoarte molare	132
8.3.4 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și gama-ciclodextrină, la diferite rapoarte molare	135
8.3.5 Rezultate experimentale obținute prin DSC pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și beta-ciclodextrină, la diferite rapoarte molare	138
8.3.6 Rezultate experimentale obținute prin DSC pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrină, la diferite rapoarte molare	142
8.3.7 Rezultate experimentale obținute prin DSC pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și gama-ciclodextrină, la diferite rapoarte molare	147
8.4 Caracterizarea structurală și morfologică a complexșilor de incluziune dintre cinconină și ciclodextrine	147
8.4.1 Analiza rezultatelor obținute prin FT-IR pentru complexșii de incluziune dintre cinconină și ciclodextrine, la diferite rapoarte molare	147
8.4.2 Caracterizarea morfologică prin SEM a complexșilor de incluziune dintre cinconină și 2-hidroxipropil-beta-ciclodextrină, pentru rapoartele molare 1:1 și 1:2	151
8.5 Corelații între termodinamica, structura și morfologia complexșilor de incluziune	152
8.6 Concluzii	156
9. Studiul interacției dintre clorhidratului de doxorubicina și γ-ciclodextrină	158
9.1 Considerații generale. Importanța studiului	158
9.2 Metoda de sinteză a probelor	159
9.3 Studiul experimental al complexarii dintre Dox și γ CD în stare lichidă	160
9.3.1 Analiza sistemului Dox/ γ CD prin măsurători de spectroscopie UV-Vis	160
9.3.1.1 Detalii experimentale în legătură cu măsurătorile UV-Vis	160
9.3.1.2 Analiza spectrelor UV-Vis și determinarea stoichiometriei	160
9.3.1.3 Determinarea constantelor de asociere și a parametrilor termodinamici pentru sistemul Dox/ γ CD	162
9.3.2 Măsurători de pH și distribuția microspeciilor Dox	165

9.3.3 Analiza sistemului Dox/ γ CD prin măsurători de titrare calorimetrică izotermă (ITC)	167
9.3.3.1 Detalii experimentale în legătură cu măsurătorile ITC	167
9.3.3.2 Analiza parametrilor termodinamici obținuți din ITC	168
9.3.4 Corelații între parametrii termodinamici și forțele motrice implicate în formarea complexului	170
9.4 Studiul experimental al complexării dintre Dox și γ CD în stare solidă	172
9.4.1 Studiul termodinamic al compușilor de incluziune dintre Dox și γ CD	172
9.4.1.1 Rezultate experimentale obținute prin TG/DTG	172
9.4.1.2 Rezultate experimentale obținute prin DSC	173
9.4.2 Caracterizarea structurală și morfologică a sistemului Dox/ γ CD	175
9.4.2.1 Analiza rezultatelor obținute prin FT-IR	175
9.4.2.2 Caracterizarea morfologică prin microscopie electronică cu baleiaj (SEM)	177
9.5 Concluzii	178
10. Concluzii generale. Contribuții originale	179
11. Perspective de extindere și continuare a cercetărilor	182
Bibliografie	183
Lista lucrărilor și comunicărilor științifice	204

CUVINTE CHEIE: Termodinamică, Stabilitate, Morfologie, Ciclodextrină, Cinconină, Uracil

1. Introducere

“Ciclodextrinele sunt recipiente moleculare universale pentru: compuși organici, anorganici, organometalici și metalorganici, specii chimice neutre, cationice, anionice sau chiar radicali organici” [1]. Principala proprietate a ciclodextrinelor este aceea de a forma complecși cu aproape orice tip de moleculă oaspete. Datorită arhitecturii moleculare remarcabile, ciclodextrinele joacă un rol important în medicină, biologie, industria farmaceutică, alimentară și a bunurilor de consum, importanța deosebită reflectându-se de asemenea în numărul de lucrări și patente dedicate aplicațiilor ciclodextrinelor și compușilor de incluziune.

În cadrul tezei au fost aduse contribuții originale privind studiul termoanalitic al unor complecși ai ciclodextrinelor cu molecule organice și au fost corelate aspecte ale comportării termice cu aspectele structurale și morfologice implicate în formarea acestora. Pentru a susține informația rezultată din datele termodinamice, au fost obținuți prin calcule de chimie cuantică parametri energetici ai interacției de complexare și au fost prezentate noi date structurale și morfologice în legătură cu complecșii studiați.

Motivația studiului este legată și de alte aspecte, cum ar fi:

- necesitatea obținerii de noi informații privind structura, morfologia și calculele de chimie cuantică pentru sisteme ligand/ciclodextrine cu importanta biochimică;
- rolul parametrilor energetici în evidențierea corelației dintre structura moleculei oaspete și proprietățile complexului obținut cu ciclodextrină;
- importanța sistemelor studiate, acestea putând constitui modele în cadrul unei serii de complecși realizați între ciclodextrine și molecule ditopice.

Studiul desfășurat în cadrul acestei teze se bazează pe analiza rezultatelor obținute prin combinarea mai multor metode experimentale și anume:

- Metode de analiză termică și calorimetrie (calorimetria diferențială dinamică – DSC, analiză termogravimetrică TG, titrare calorimetrică izotermă-ITC).
- Metode de caracterizare structurală și morfologică (măsurători de spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier-FT-IR, microscopie electronică cu baleaj-SEM, spectroscopie de absorbție în domeniul ultraviolet – vizibil-UV-Vis).
- Determinare de pH.
- Calcule de chimie cuantică (QC).

În acest studiu au fost selectate drept molecule oaspete o serie de aminoacizi și substanțe active cu importantă biochimică bine cunoscută, pentru care au fost sintetizați complecșii de incluziune cu diferite ciclodextrine [**alfa-ciclodextrină (α CD)**, **beta-ciclodextrină (β CD)**, **2-hidroxiopropil-alfa-ciclodextrină (HP α CD)**, **2-hidroxiopropil-beta-ciclodextrină (HP β CD)**, **gama-ciclodextrină (γ CD)**]. În tabelul de mai jos pot fi vizualizate sistemele considerate și metodele de investigare utilizate în această teză.

Tip Ciclodextrină / Molecula oaspete	α CD	β CD	2HP α CD	2HP β CD	γ CD	Metode de analiză
L-Arginină	•	•	•			DSC, TG/DTG, FTIR, SEM,
D-Arginină	•	•	•			DSC, TG/DTG, FTIR, SEM,

L-Histidină	•	•	•			DSC, TG/DTG, FTIR, SEM,
D-Histidină	•	•	•			DSC, TG/DTG, FTIR, SEM,
L-Triptofan	•	•	•			DSC, TG/DTG, FTIR, SEM,
D-Triptofan	•	•	•			DSC, TG/DTG, FTIR, SEM,
Uracil	•	•	•	•		DSC, TG/DTG, FTIR, SEM, QC, UV-Vis
5-Fluorouracil	•	•	•	•		DSC, TG/DTG, FTIR, SEM, QC, UV-Vis
Doxorubicină					•	DSC, TG/DTG, ITC, FTIR, SEM, UV-Vis, pH
Cinconină		•		•	•	DSC, TG/DTG, FTIR, SEM, UV- Vis

Având în vedere domeniul de studiu abordat, în cadrul acestei teze s-a urmărit realizarea următoarelor obiective specifice:

- 1) Sinteza complexelor de incluziune pornind de la o moleculă oaspete și ciclodextrină corespunzătoare, utilizând metode de preparare ieftine și simple din punct de vedere al procedurii.
- 2) Caracterizarea termochimică a substanțelor pure de la care s-a pornit sinteza complexelor și determinarea parametrilor termochimici corespunzători.
- 3) Caracterizarea termodinamică și termochimică a complexelor sintetizați, a stabilității și a caracteristicilor termice esențiale, utilizând metode de analiză termică și calorimetrie adecvate.
- 4) Determinări spectral, pentru a verifica formarea complexelor de incluziune.
- 5) Determinări legate de morfologia complexelor.
- 6) Utilizarea metodelor de analiză ca UV-Vis, QC pentru stabilirea parametrilor energetici și a stoechiometriei complexelor.
- 7) Evidențierea influenței mediului de reacție și a structurii componentelor în procesul de formare a complexelor de incluziune.

Teza de doctorat este structurată în 11 *Capitole incluse în trei părți principale:*

Partea I (capitolele 1, 2 3): este dedicată considerațiilor generale privind termodinamica echilibrelor de fază în sisteme de tip „receptor-ligand” și stadiului actual al cercetărilor în domeniul termodinamicii compușilor de incluziune cu ciclodextrine.

Partea a II-a (capitolul 4): este dedicată metodelor și tehnicilor experimentale utilizate pentru caracterizarea probelor.

Partea a III-a (capitolele 5, 6, 7, 8, 9, 10): prezintă contribuțiile originale în legătură cu sistemele ligand-ciclodextrină abordate în cadrul tezei de doctorat.

În finalul acestei lucrări sunt prezentate concluziile generale și perspectivele legate de acest studiu, urmate apoi de referințele bibliografice și lista lucrărilor și comunicărilor științifice în legătură cu tematica tezei.

Capitolul 1 prezintă o scurtă introducere în care sunt prezentate informații referitoare la importanța ciclodextrinelor și a complexelor de incluziune formați cu ciclodextrine. Sunt prezentate scopul, obiectivele specifice și structura tezei de doctorat.

Capitolul 2 cuprinde informații esențiale legate de termodinamica tranzițiilor de fază de ordinul I. În acest capitol sunt prezentate noțiuni fundamentale legate de funcțiile termodinamice ale transformărilor de fază ce au loc în sistemele de tip moleculă oaspete – ciclodextrină. De asemenea, este descrisă pe baza ecuațiilor termodinamice, teoria aplicată în determinarea purității substanțelor.

Capitolul 3 conține generalități asupra structurii și proprietăților ciclodextrinelor, ca și descrierea celor mai utilizate metode de preparare a compușilor de incluziune. În acest capitol sunt furnizate principalele informații legate de forțele motrice și factorii sterici care influențează structura și termodinamica procesului de complexare.

Capitolul 4 prezintă aparatura și metodele de analiză utilizate în această teză pentru a studia componenții puri și complexii sintetizați.

Capitolul 5 conține datele de analiză termică obținute pentru ciclodextrinele pure (α CD, β CD, HP α CD, HP β CD, γ CD). Etapa de caracterizare a ciclodextrinelor pure este absolut necesară pentru a cunoaște proprietățile CD în momentul preparării complexelor, ca și în analiza formării acestora.

Capitolul 6 prezintă contribuțiile originale rezultate în urma investigării complexelor de incluziune obținuți între moleculele oaspete uracil sau 5-fluorouracil și ciclodextrine. În urma sintezei au rezultat 16 sisteme care au fost investigate din punct de vedere termodinamic utilizând DSC/TG. Realizarea complexării a fost verificată prin metodele FTIR și SEM. A fost determinată stoechiometria complexelor înainte de obținerea pulberilor solide și au fost realizate calcule de chimie cuantică care au furnizat parametri energetici caracteristici interacției de complexare.

Capitolul 7 cuprinde datele experimentale privitoare la studiul în stare solidă al complexelor formați între izomerii optici ai aminoacizilor: arginină, histidină și triptofan cu ciclodextrinele. În urma analizei termice au fost stabiliți parametri termodinamici ai aminoacizilor puri și ai complexelor. Au fost realizate discuții comparative referitoare la stabilitatea complexelor și au fost furnizate date FTIR și de morfologie pentru toți complexii studiați și pentru aminoacizii puri corespunzători. Ținând cont de datele obținute a fost discutată influența diferiților factori care au determinat termodinamica complexării și structura complexelor.

Capitolul 8 prezintă studiul complexelor de incluziune obținuți între cinconină și ciclodextrine pentru rapoartele molare 1:1, 2:1 și 1:2 (ligand-ciclodextrină). Pe baza datelor de analiză termică au

fost furnizate termogramele corespunzătoare, parametrii corespunzatori efectelor termice și a fost discutată stabilitatea complexilor, datele termochimice fiind susținute de analiza structurală și morfologică. Au fost discutate prin corelare, influența factorilor structurali și a mediului de reacție asupra comportamentului de complexare.

Capitolul 9 cuprinde contribuțiile originale rezultate din analiza complexului format între doxorubicină și gama ciclodextrina, în stare solidă și lichidă. A fost investigată stoechiometria soluției și au fost determinați parametrii termodinamici prin titrare calorimetrică izotermă și din date de spectroscopie UV-Vis. Pulberea solidă a complexului a fost investigată prin analiză termică și au fost prezentate termogramele și parametrii termochimici corespunzători. A fost determinat modul de complexare pe baza datelor de spectroscopie FTIR și au fost prezentate datele privind analiza morfologică.

Capitolele 10 și 11 prezintă concluziile finale și perspectivele de extindere și continuare a cercetărilor.

Contribuții originale la caracterizarea sistemelor de tipul ligand-ciclodextrină

2. Studiul comparativ al compușilor de incluziune ai uracilului și 5-fluorouracilului cu ciclodextrinele

Prepararea compușilor de incluziune (U/ α CD, 5FU/ α CD, U/ β CD, 5FU/ β CD, U/HP α CD, 5FU/HP α CD, U/HP β CD, 5FU/HP β CD) în stare solidă a fost realizată prin metoda „topirii în soluție”, utilizând rapoarte molare 1:1 (ligand-CD). Stoechiometria sistemelor a fost determinată prin metoda variațiilor continue. Fiecare sistem menționat a fost echilibrat 24h, după care a fost urmărită variația absorbantei la 258 nm pentru sistemele formate cu U și la 265 nm pentru sistemele formate cu 5FU. În acest experiment, stoechiometria a fost determinată pentru soluții apoase de concentrație 10^{-5} M și pentru fiecare dintre sistemele studiate, raportul stoechiometric este 1:1. Aceste determinări au fost necesare pentru a verifica dacă la concentrații scăzute raportul molar de la care se pornește prepararea, corespunde stoechiometriei.

Analiza DSC arată ca în cazul compușilor de complexare formați de 5FU sau de U cu ciclodextrinele, procesul termic atribuit topirii moleculei oaspete nu este prezent, ceea ce indică

existența unor interacții puternice între moleculele oaspete și cavitatea CD, pentru toți complexii studiați, așa cum este indicat în Fig. 2.1.

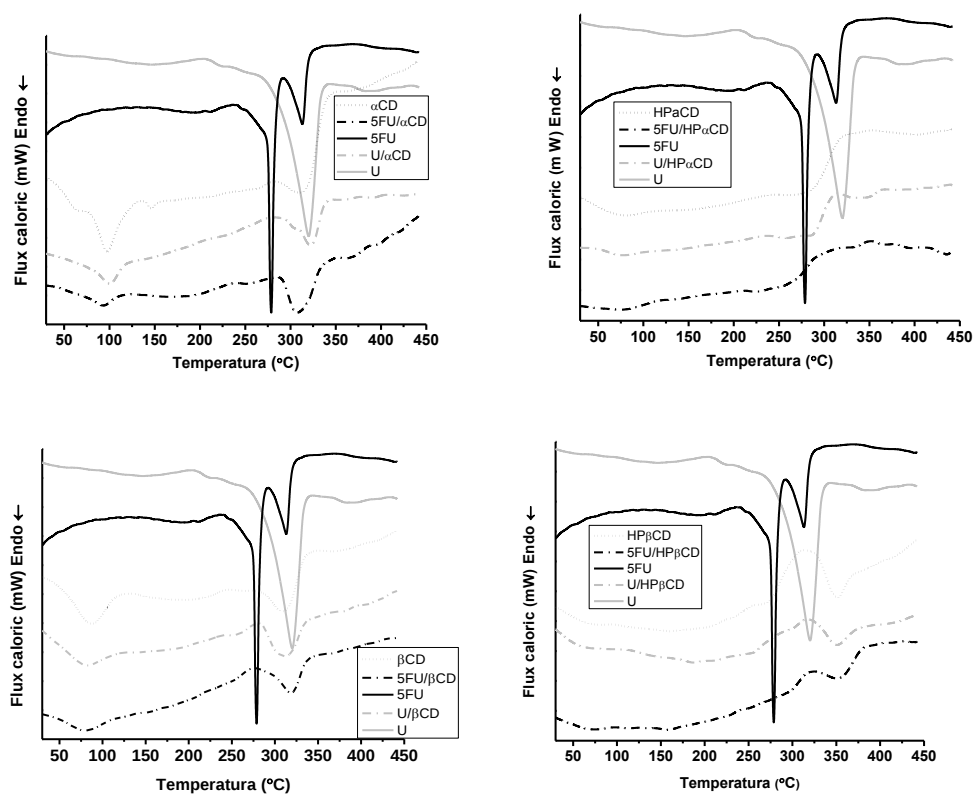


Fig. 2.1 Termogramele DSC pentru U, 5FU, α CD, β CD, HP α CD, HP β CD și complexii de incluziune sintetizați

Formarea complexelor cu ciclodextrinele funcționalizate a fost mai eficientă decât formarea complexelor cu ciclodextrinele native, iar acest aspect a putut fi evidențiat urmărind valorile temperaturii de descompunere a complexelor, după cum este arătat în Tabelul 2 – 1.

Tabelul 2 - 1

Ordinea complexelor de incluziune formați între U/5FU și ciclodextrine, considerând temperatura de start a procesului de descompunere

Complex	5FU/HP β CD>5FU/HP α CD>U/HP β CD>U/HP α CD>5FU/ β CD>U/ β CD>5FU/ α CD>U α CD							
T (°C)	299.2	262.1	260.7	258.7	254.1	253.2	252.1	239.4

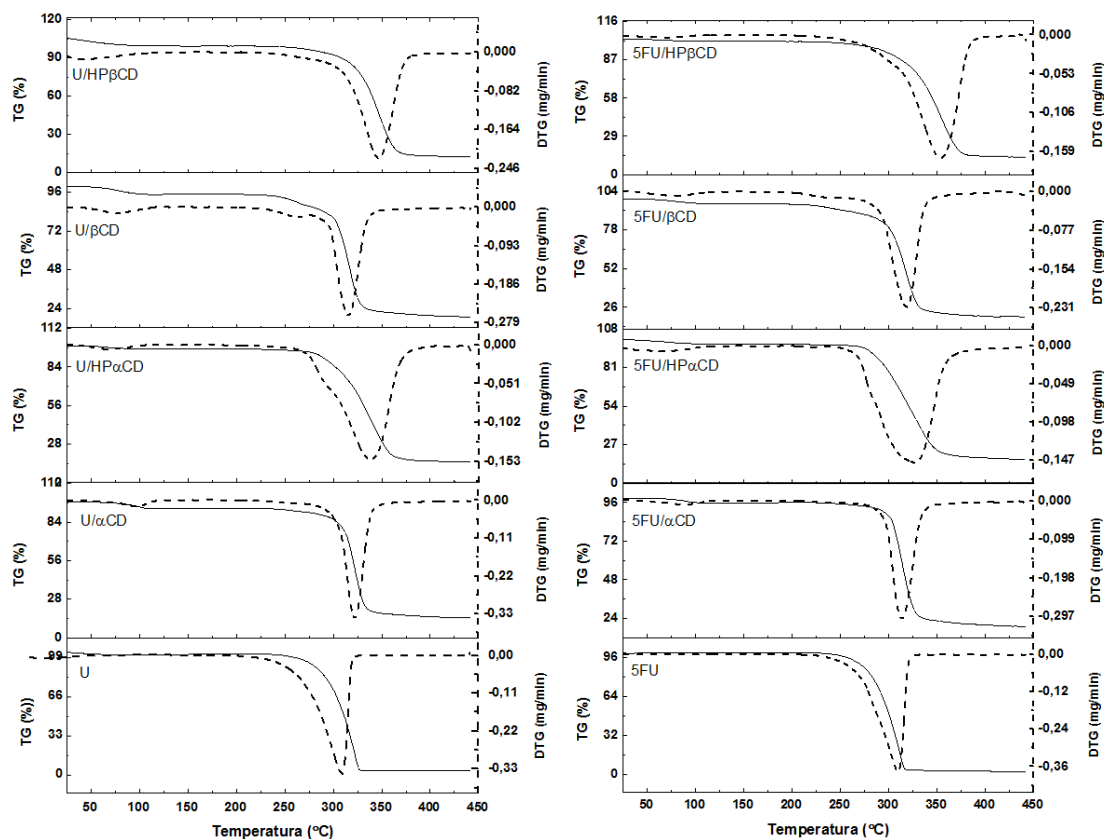


Fig. 2.2 Curbele TG (linie continuă) și DTG (linie punctată) pentru U, 5FU și pentru complexe formate între U, 5FU și ciclodextrine.

Analiza datelor TG/DTG (Fig. 2.2) confirmă rezultatele obținute prin DSC, fiind evidentă formarea complexelor de incluziune în cazul tuturor sistemelor studiate [2].

Fig. 2.3 prezintă spectrele FTIR-ATR pentru U, 5FU, ciclodextrine și ale compuşilor de incluziune. Pentru ciclodextrinele pure este caracteristică banda largă prezentă în spectru cu maximul de absorbție la 3288 cm^{-1} pentru αCD , la 3314 cm^{-1} pentru βCD , 3302 cm^{-1} pentru $\text{HP}\alpha\text{CD}$ și la 3330 cm^{-1} pentru $\text{HP}\beta\text{CD}$. Această bandă este atribuită vibrației de întindere a grupării O-H în modurile simetric și anti-simetric și este afectată atunci când se formează complexul de incluziune [3]. Pentru sistemele 5FU/ αCD , U/ αCD , 5FU/ $\text{HP}\alpha\text{CD}$ și U/ $\text{HP}\alpha\text{CD}$ nu sunt observate modificări importante legate de banda de la aproximativ 3300 cm^{-1} , aceasta fiind mult mai deplasată în cazul complexelor de incluziune 5FU/ $\text{HP}\beta\text{CD}$, U/ $\text{HP}\beta\text{CD}$, U/ βCD și 5FU/ βCD . Pentru aceștia din urmă, se poate spune că includerea moleculei oaspete în cavitatea CD are loc cu implicarea unui număr mai mare de legături de hidrogen [4].

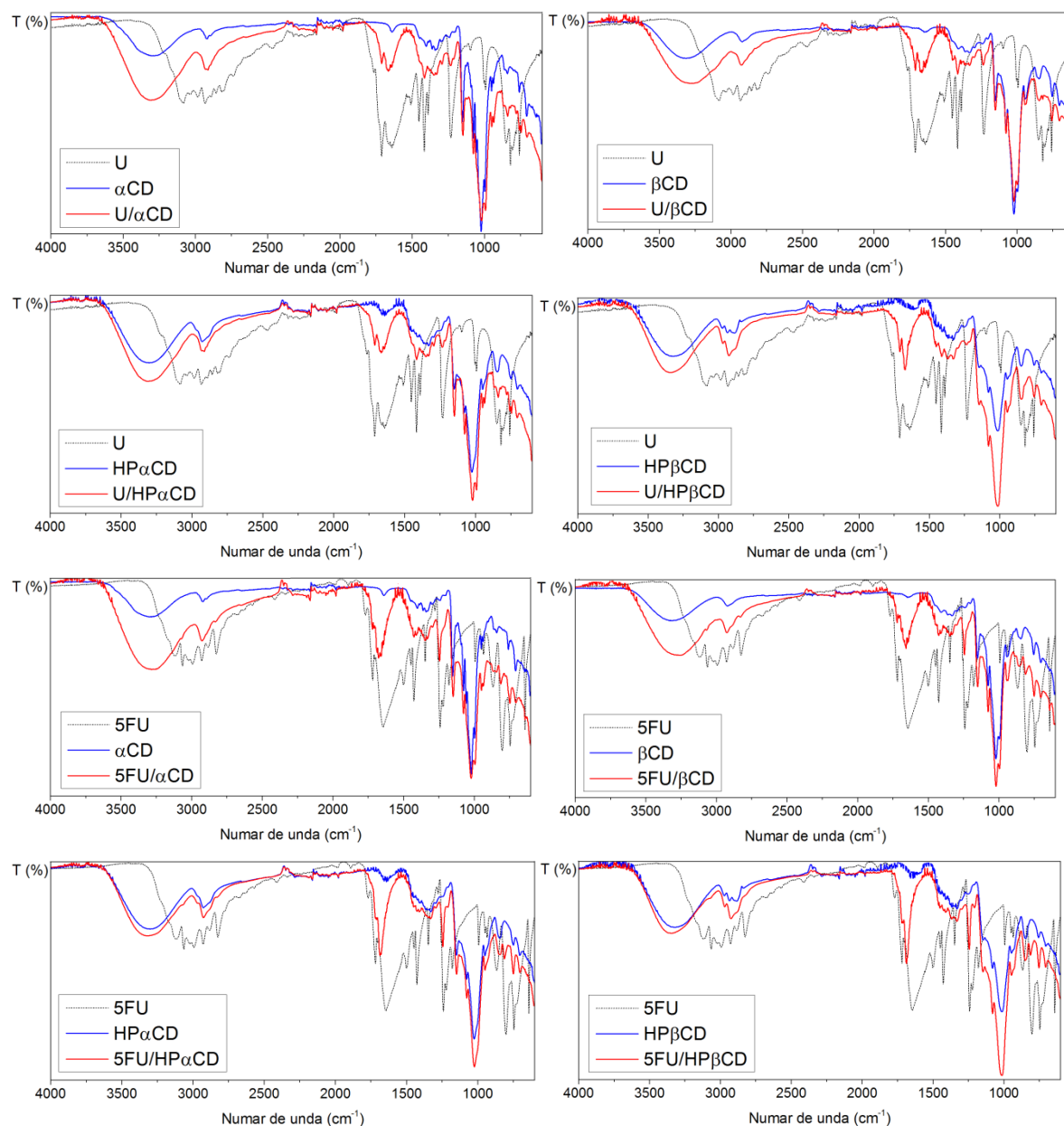


Fig. 2.3 Spectrele FT-IR pentru: U, 5FU, ciclodextrine si compuși de incluziune formați pentru raportul molar 1:1 (ligand/CD)

Calcululele de chimie cuantică au fost efectuate utilizând facilitățile pachetului de programe GAMESS instalate pe un cluster IBM format din 65 de unități de calcul. Geometriile sistemelor studiate au fost optimizate folosind seturi de funcții de undă îmbunătățite: STO-3G, STO-6G, n311-6G și în final, funcția de valență zeta triplă (TZV) [5, 6]. Calcululele de chimie cuantică au arătat că rezultatele obținute aplicand DFT (teoria funcționalei de densitate) confirmă faptul că s-au format complecși de incluziune între liganzii considerați (U/5FU) și ciclodextrinele α CD, β CD, HP α CD,

HP β CD. Energiile MPE (MPE = energia de perturbare reciprocă) sunt reprezentate pentru poziția moleculei oaspete în interiorul cavității CD, pentru toate structurile de tip HG (CD/ligand) –Fig. 2.4. În Fig. 2.5, se observa ca în cazul configurațiilor R (molecula oaspete plasată în centrul deschiderii mici a CD, paralelă cu aceasta), planul moleculei 5FU a rămas perpendicular pe axa Oz, molecula 5FU fiind puternic legată de molecula gazdă prin legături de hidrogen (Fig. 2.5).

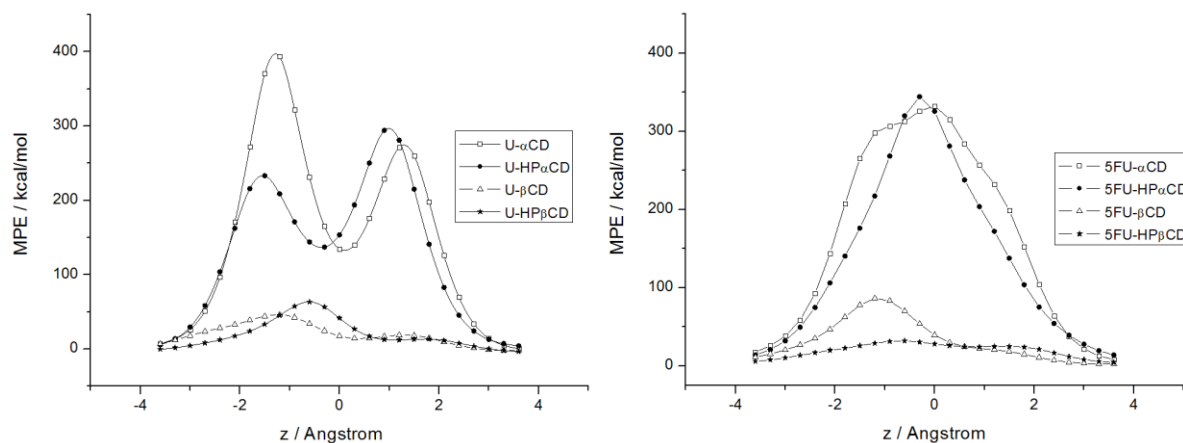


Fig. 2.4 Variația MPE corespunzătoare poziției moleculei oaspete în interiorul cavității CD, pentru ansamblul HG format între: (stânga) - molecula de U cu α CD, β CD, HP α CD, HP β CD și (dreapta) - molecula de 5FU cu α CD, β CD, HP α CD, HP β CD

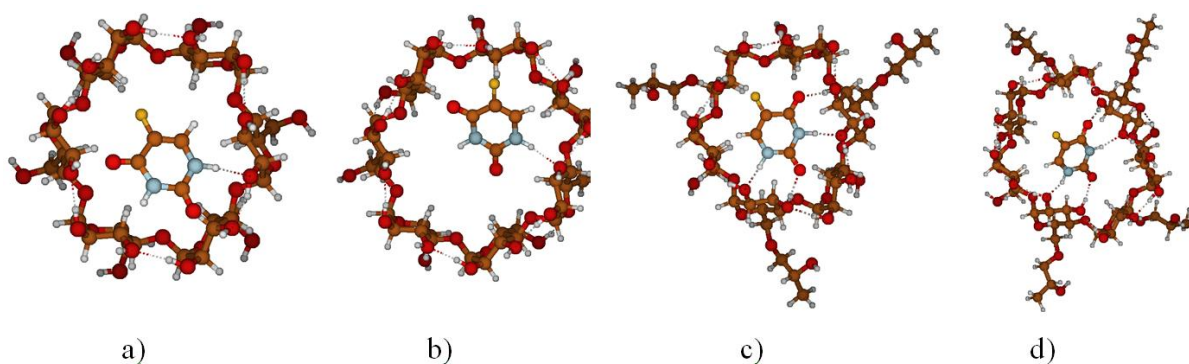


Fig. 2.5 Configurațiile finale ale complexelor de incluziune de tip H-5FU-R: a) α CD-5FU-R, b) β CD-5FU-R, c) HP α CD-5FU-R, d) HP β CD-5FU-R

În cazul complexelor de tip H-5FU-R se poate observa (Fig. 2.4) că energiile de tip MPE (energia de perturbare reciprocă) sunt semnificativ mai mari pentru HP α CD și HP β CD. Se poate afirma că 5FU formează complexe mai stabili cu ciclodextrinele modificate, decât cu cele native.

Pe baza rezultatelor obtinute s-a constatat că:

- Atât molecula de U cât și cea de 5FU interacționează mai slab cu α CD, iar molecula de U interacționează mai slab cu HP β CD și cu β CD, decât 5FU.
- Analizele FTIR și DSC/TG sugerează formarea prin incluziune a tuturor complexelor sintetizați, indicând existența interacțiilor între moleculele componente ale complexului de incluziune.
- Considerând energiile calculate, rezultatele QC indică o stabilitate mai mare pentru complexii formați de 5FU cu ciclodextrinele modificate, decât cu ciclodextrinele native și implicit indică o corespondență cu rezultatele indicate de analiza DSC.

3. Compușii de incluziune ai ciclodextrinelor cu stereoizomerii alfa-aminoacizilor

A fost evaluat procesul de complexare dintre izomerii optici ai aminoacizilor: Arg, His și Trp cu α CD, β CD, HP α CD în stare solidă, efectuându-se pentru prima dată un studiu analitic sistematic al acestui tip de complexi preparați în raport molar 1:1 prin metoda coprecipitării [7]. Datele de analiza termică au aratat că LArg/ β CD, DArg/ β CD, LHis/ β CD, LTrp/ β CD și DTrp/ β CD sunt cei mai stabili termic. În cazul complexelor: LArg/ α CD, LArg/HP α CD, DArg/HP α CD, LHis/ α CD, LHis/HP α CD, DHis/ α CD, DHis/HP α CD, DHis/ β CD, LTrp/ α CD, LTrp/HP α CD, DTrp/ α CD, DTrp/HP α CD au fost realizate ilustrații în care este prezentată comparativ, variația temperaturilor de start (T_{on}), de tranziție (T_m) și a entalpiei (ΔH) corespunzătoare endotermei de topire, (Fig. 3.1, 3.2 și 3.3). Astfel s-au putut realiza comparații între acești complexi de incluziune și s-a putut determina complexul cu cea mai mare stabilitate termică, considerând drept criterii, valoarea cea mai joasă a ΔH și temperatura de tranziție cea mai ridicată.

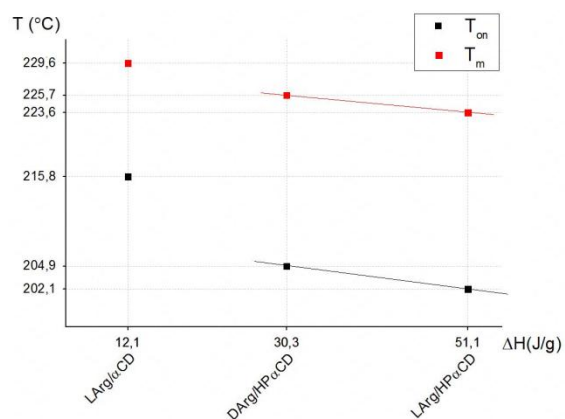


Fig. 3.1 Variația temperaturilor de start, de tranziție și a entalpiei, pentru endoterma de topire a complexșilor LArg/ α CD, DArg/ α CD, LArg/HP α CD

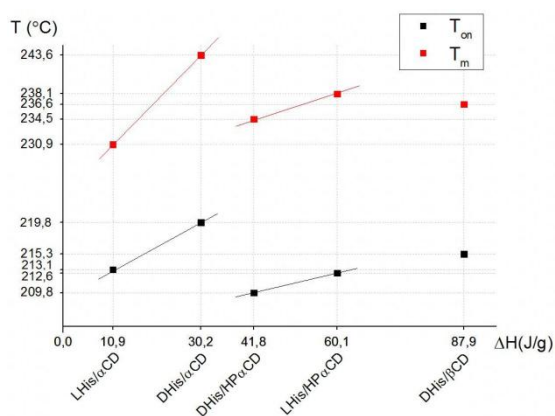


Fig. 3.2 Variația temperaturilor de start, de tranziție și a entalpiei, pentru endoterma de topire a complexșilor formați între izomerilor His și α CD, HP α CD și pentru complexul DHis/ β CD

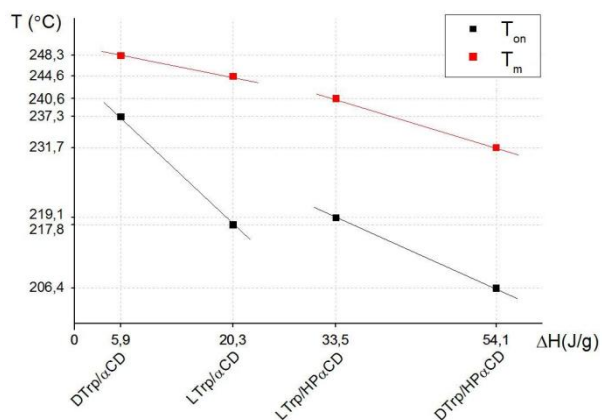


Fig. 3.3 Variația temperaturilor de start, de tranziție și a entalpiei, pentru endoterma de topire a complexșilor formați între izomerii Trp și α CD, respectiv HP α CD

În urma corelării datelor obținute pentru sistemele studiate, s-au constatat următoarele:

- 1) în cazul His, se observă o afinitate mai mare a ciclodextrinelor față de izomerul levogir;
- 2) în cazul Arg, ambii izomeri sunt preferați, afinitatea mai mare fiind prezentată de ciclodextrinele native;
- 3) cei mai stabili complecși de incluziune se obțin între izomerii Trp și α CD, β CD, HP α CD, iar dintre aceștia cei mai favorizați energetic sunt cei formați cu ciclodextrinele native.
- 4) în ansamblu, se poate concluziona că aminoacizii Arg, His și Trp interacționează cu α CD, β CD mai puternic decât cu HP α CD.

4. Caracterizarea interacției dintre cinconină și ciclodextrine

Complecșii în stare solidă formați între Cinc și ciclodextrinele: β CD, HP β CD, γ CD pentru rapoartele molare 1:1, 2:1 și 1:2, au fost sintetizați prin metoda coprecipitării utilizându-se drept solvent o soluție mixtă de apă:alcool 50% Vol.

Pentru sistemele formate din Cinc și ciclodextrinele native β CD și γ CD au fost indicate diferențe în legătură cu comportarea termică a acestor complecși, după cum este aratat in Fig. 4.1.

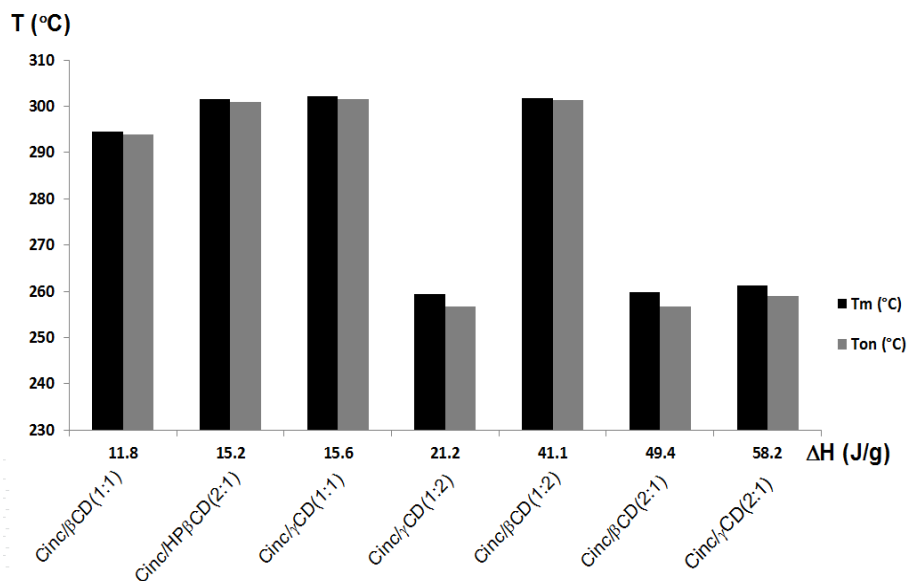
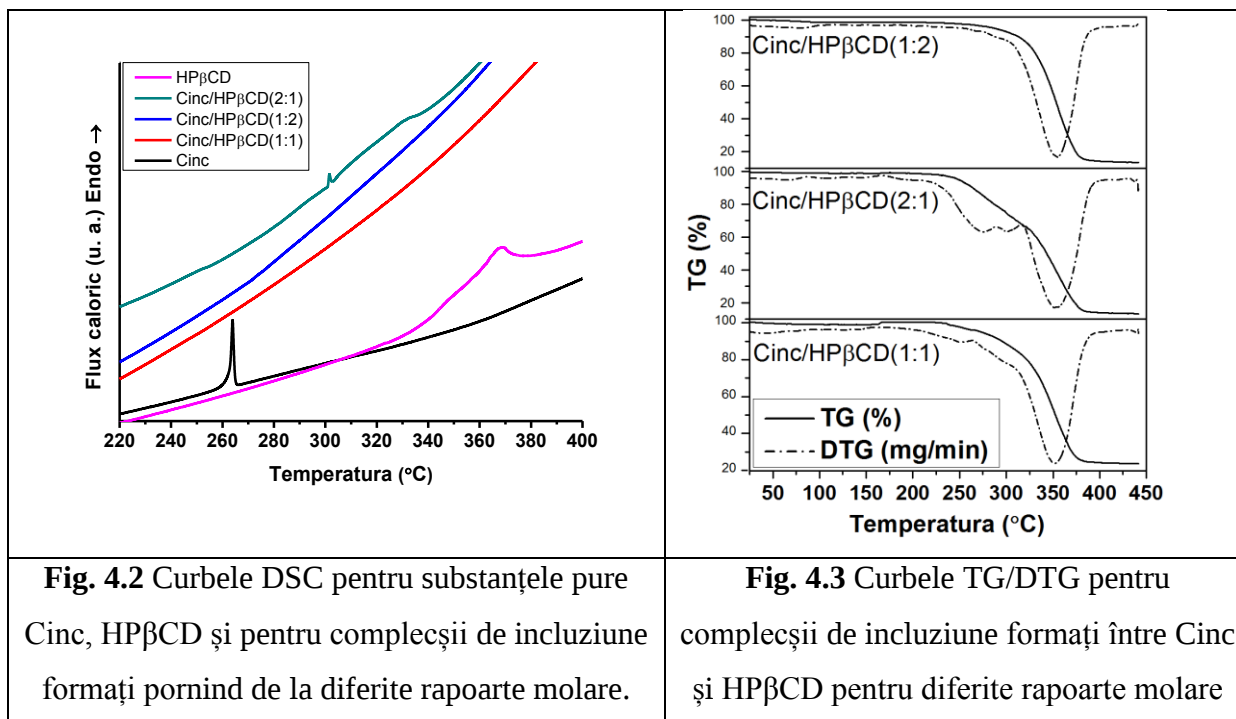


Fig. 4.1 Variația temperaturilor de start, de tranziție și a entalpiei, pentru endoterma de topire a complecșilor formați între Cinc și ciclodextrine, pentru rapoartele molare 1:2, 1:1 și 2:1 (ligand:cyclodextrină)

În cazul compușilor formați între Cinc și HP β CD, s-a demonstrat prin analiza DSC/TG formarea complexului de incluziune pentru rapoartele molare 1:1 și 1:2 (oaspete:gazdă), așa cum este indicat în Fig. 4.2 și 4.3



Pe baza datelor de analiză termică s-a constatat că:

- Există posibilitatea unor interacții energetice favorabile între componentii sistemelor formate din Cinc și ciclodextrinele native: β CD și γ CD, pentru rapoartele molare 1:1 și 1:2 (oaspete:gazdă), ca și în cazul sistemului Cinc/HP β CD(2:1), prin includerea parțială în cavitatea HP β CD a celor două molecule de Cinc.
- Dimensiunea fizică a cavității CD, solventul și funcționalizarea CD influențează formarea complexelor prin includerea moleculei oaspete.

5. Studiul interacției dintre clorhidratul de doxorubicină și ciclodextrine

A fost evaluat procesul de complexare dintre medicamentul Dox și γ CD în stare lichidă și solidă, efectuându-se pentru prima dată un studiu termodinamic sistematic al acestei interacții.

Interacția necovalentă dintre Dox și γ CD a fost evaluată în stare lichidă prin utilizarea măsurătorilor de pH, spectroscopiei UV-Vis și a măsurătorilor ITC.

pH-ul fiecărui raport molar Dox/ γ CD a fost monitorizat atunci când a fost evaluată stoichiometria complexului prin metoda variațiilor continue, iar rezultatul este prezentat în Fig. 5.1

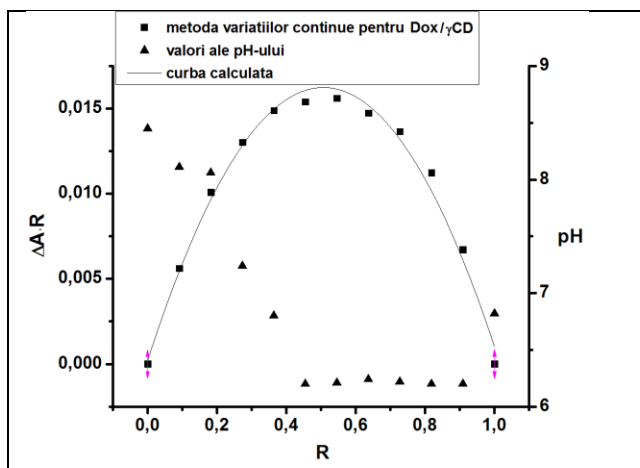


Fig. 5.1 Determinarea stoichiometriei prin metoda variațiilor continue pentru sistemul Dox/ γ CD, la temperatura de 25 °C ($\lambda = 473$ nm)

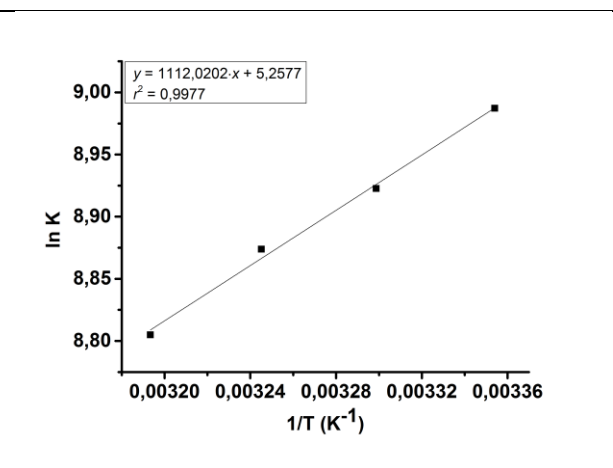
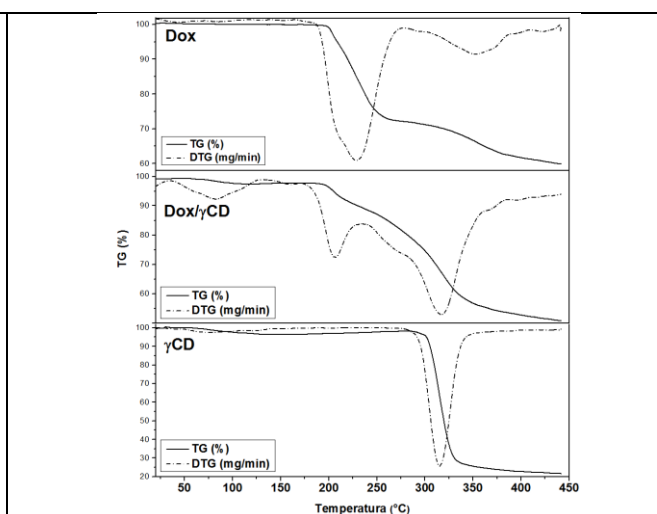
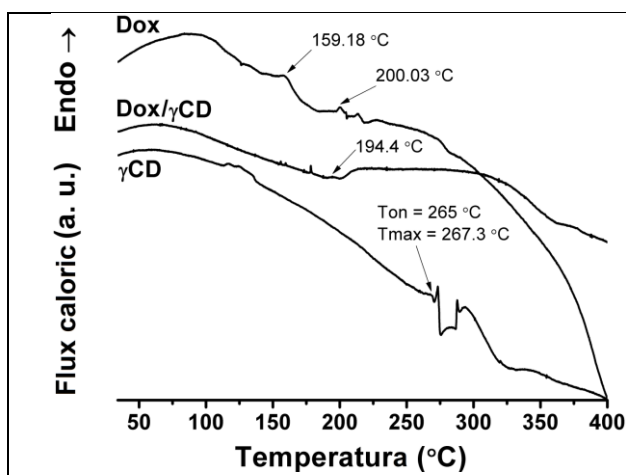
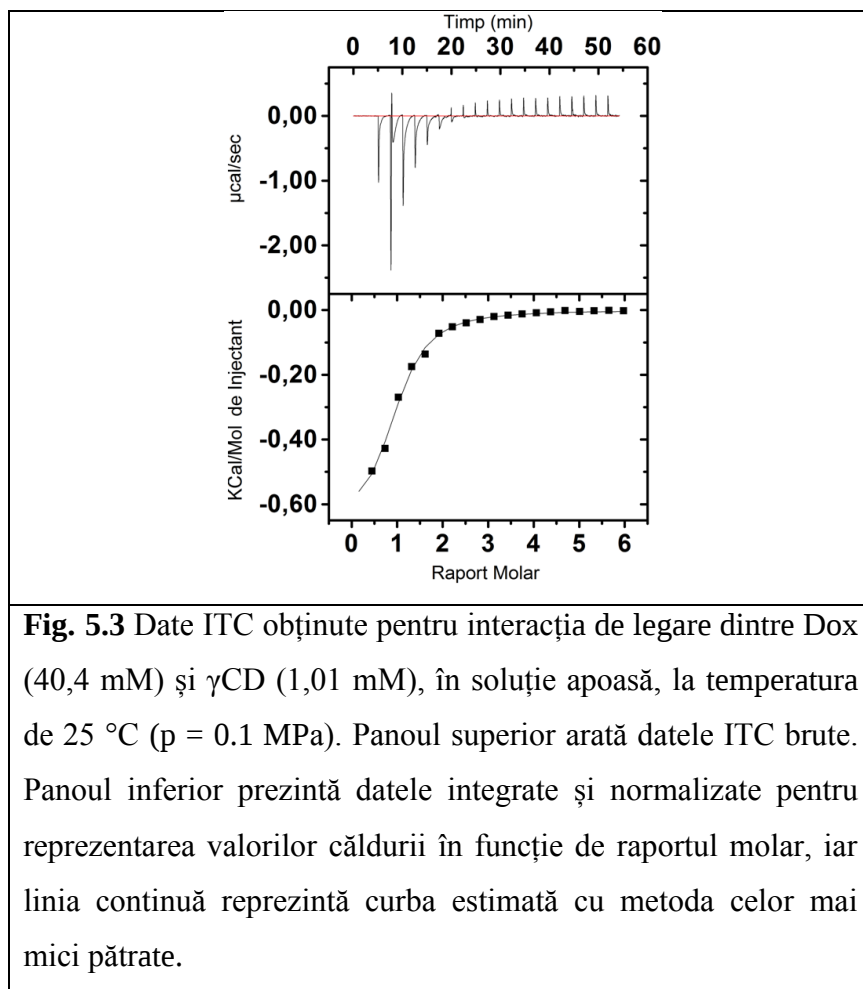


Fig. 5.2 Variația constantei de echilibru cu temperatura pentru sistemul Dox/ γ CD

Rezultatele au arătat că în urma interacției dintre Dox și γ CD, complexul de incluziune s-a format cu stoechiometria 1:1 și, în plus, datele referitoare la procesele termodinamice care au avut loc în stare lichidă au confirmat faptul că interacția a fost termodinamic favorabilă, cu o variație negativă a energiei libere Gibbs. A fost evidențiat faptul că procesul de complexare este predominant condus de entropie și moderat condus de entalpie, așa cum a rezultat din analiza van't Hoff realizată pe baza datelor UV-Vis și din măsurători ITC (Fig. 5.2 și 5.3)

Analiza TG/DTG a substanțelor pure și a complexului Dox/ γ CD a fost realizată în intervalul de temperatură de la 25 °C la 450 °C, iar curbele rezultate sunt prezentate în Fig. 5.5



Comportamentul termic al complexului Dox/ γ CD este prezentat în termogramele din Fig. 5.4 și 5.5. În domeniul de temperatură de la 25 °C la 130 °C are loc procesul de deshidratare care se desfășoară în trei etape succesive, cu pierderea totală de masă de 2,6%. După fenomenul de deshidratare, Dox/ γ CD prezintă un proces secvențial de descompunere, așa cum este evidențiat și de asimetria profilului DTG (Fig. 5.5) [8].

Morfologia compușilor puri, ca și cea a complexului Dox/ γ CD au fost evaluate cu ajutorul SEM, iar imaginile obținute sunt prezentate în Fig. 5.6.

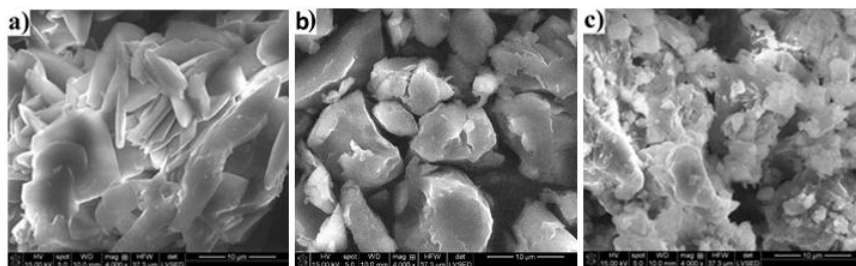


Fig. 5.6 Imaginile SEM obținute la temperatura de 25 ± 1 °C pentru: a) Dox, b) complexul de incluziune Dox/ γ CD și c) γ CD

Se poate observa că morfologia complexului Dox/ γ CD prezintă o nouă fază solidă, în care caracteristicile morfologice ale Dox și γ CD nu mai sunt prezente.

6. Concluzii generale. Contribuții originale

Obiectivul tezei este studiul termoanalitic al unor complecși ai ciclodextrinelor cu molecule organice și corelarea comportării termodinamice cu aspectele structurale și morfologice implicate în formarea acestora.

În cadrul tezei, caracterizarea sistemelor ligand/CD s-a realizat prin calorimetrie dinamică diferențială, termogravimetrie, titrare calorimetrică izotermă, iar rezultatele au fost susținute de date spectrale și morfologice.

În acest studiu, sinteza complecșilor de incluziune a fost realizată prin metodele “topire și soluție” și “coprecipitare” pornind de la raportul molar 1:1.

Moleculele oaspete au fost alese astfel încât să aparțină unor clase diferite structural, iar comportamentul de complexare a fost investigat sub influența diferiților factori cum ar fi: raportul molar, modul de sinteză, solubilitatea.

Dezvoltarea obiectivelor propuse în cadrul acestei lucrări a condus la următoarele concluzii și contribuții originale:

- În această teză a fost realizat pentru prima dată un studiu termoanalitic sistematic asupra pulberilor solide ale complexilor formați între moleculele: uracil (U), 5-fluorouracil (5FU) și ciclodextrinele: α CD, HP α CD, β CD și HP β CD, fiind comunicate pentru prima dată valorile temperaturilor de descompunere ale complexilor și ordinea stabilității termice a acestora.
- Pentru prima dată, pentru sistemele formate între U, 5FU și ciclodextrinele: α CD, β CD, HP α CD, HP β CD au fost efectuate calcule de chimie cuantică în care au fost stabilite valorile energiilor de legătură, deformare și ale energiei de perturbare mutuale.
- Au fost investigate sistemele formate între izomerii optici ai aminoacizilor: arginină (Arg), histidină (His), triptofan (Trp) cu fiecare dintre ciclodextrinele α CD, β CD, HP α CD. Pentru pulberile solide ale complexilor formați între His, Arg și ciclodextrine, au fost comunicate pentru prima dată rezultate experimentale legate de comportamentul termic, spectral și morfologie. Au fost discutate comparativ posibilitățile de complexare ale izomerilor aminoacizilor considerați cu ciclodextrinele, în funcție de factorii care contribuie ca forțe motrice la procesul de complexare.
- S-a arătat pentru prima dată că, în comparație cu HP α CD, ciclodextrinele native α CD și β CD interacționează mai puternic cu aminoacizii. În urma datelor obținute, s-a putut constata că în funcție de mărimea cavității și de existența funcționalizării, ciclodextrinele pot fi utilizate drept selectori chirali pentru izomerii optici ai aminoacizilor investigați.
- În cazul complexului format între doxorubicină (Dox) și γ CD (Dox/ γ CD), a fost discutată pentru prima dată influența factorilor structurali asupra comportamentului termodinamic și au fost precizați parametrii energetici corespunzători, atât pentru soluția apoasă, cât și pentru complexul sub formă de pulbere. S-a constatat că Dox formează cu γ CD un complex cu stoechiometrie 1:1, pentru o concentrație a speciilor de 10^{-5} M. În stare solidă, datele de analiză termică, FTIR și SEM confirmă faptul că complexul Dox/ γ CD s-a format prin includerea parțială a moleculei oaspete în cavitatea γ CD.

- Pentru prima dată au fost investigați în stare solidă, complexii formați între cinconină (Cinc) și ciclodextrine și s-a arătat că prezența cosolventului influențează procesul de complexare în funcție de tipul CD. Astfel că, în cazul sistemelor formate între Cinc și ciclodextrinele native, pentru rapoartele molare 1:1 și 1:2, datele de analiză termică și FTIR au arătat existența interacțiilor între componenți, dar fără formarea complexului prin includerea Cinc în cavitatea CD. Un rol important îl are funcționalizarea CD, justificându-se astfel că, pentru Cinc/HPβCD a fost posibilă formarea atât a complexului cu raport molar 1:1, cât și a celui cu raport molar 1:2.
- În cazul moleculelor oaspete (Cinc și Dox) formate din două unități structurale, s-a observat că pentru raportul molar 1:1, în stare solidă, se produce o includere parțială a moleculei oaspete în cavitatea γCD.
- Pe baza parametrilor termodinamici obținuți din DSC s-au realizat reprezentări comparative ale temperaturilor de start, de tranziție și a entalpiei, pentru endoterma de topire a complexilor formați fără incluziune, în cazul sistemelor formate între ciclodextrine și Cinc și al sistemelor formate între ciclodextrine și izomerii optici ai aminoacizilor. S-a observat faptul că valorile cele mai scăzute ale entalpiei corespund celor mai înalte valori ale temperaturii de start și de tranziție ale endotermei de topire. Acest lucru poate fi considerat drept criteriu de selecție în ceea ce privește determinarea stabilității în cadrul aceleiași serii de complecși formați fără incluziune.
- În cadrul lucrării a fost discutată importanța factorilor determinanți ai procesului de complexare, cum ar fi: hidratarea, prezența cosolventului, posibilitatea de auto-asamblare, dimensiunea și funcționalizarea cavității CD, caracteristicile structurale ale moleculei oaspete.
- A fost evidențiat faptul că prepararea complexilor pornind de la soluții apoase diluate conduce la stoechiometriei 1:1, așa cum a fost arătat pentru complexii formați între ciclodextrine și moleculele: Dox, Cinc, U și 5FU.
- În cadrul acestei teze au fost analizate pentru prima dată imaginile SEM corespunzătoare complexilor de incluziune formați între liganzii considerați și ciclodextrine.
- În această lucrare s-a subliniat necesitatea caracterizării substanțelor pure înainte de pașii de sinteză, în urma analizei termice a ciclodextrinelor fiind evidențiat faptul că prezența unui

comportament termic diferit poate fi indus de o serie de factori ca: varietatea comercială, timpul și condițiile de depozitare.

- Rezultatele obținute în această teză țin să demonstreze importanța metodelor de analiză termică în studiul complexilor formați cu ciclodextrine, alături de alte metode de investigare.

7. Perspective de extindere și continuare a cercetărilor

Proprietățile atractive ale ciclodextrinelor au determinat dezvoltarea a numeroase ramuri de cercetare, iar complexii de incluziune formați cu ciclodextrine constituie un enorm spațiu de cercetare cu noi perspective privind chimia combinatorială.

Aprecierea stabilității și reactivității complexilor este importantă în dezvoltarea de aplicații, astfel că datele referitoare la factorii energetici sunt necesare în domenii ca ingineria moleculară și chimia supramoleculară.

Datele științifice rezultate în urma acestui studiu pot fi puncte de pornire pentru noi cercetări ca separarea chirală și cataliză, de asemenea putând constitui puncte de plecare pentru realizarea de modele realiste ale unor procese mai complicate, cum ar fi hidratarea macromoleculară, proteine hidrofobe, diferite tipuri de interacții etc.

Noile cercetări vor consta în extinderea măsurărilor experimentale, cu scopul de a investiga unii factori fizico-chimici cum ar fi: concentrația moleculelor constituate ale sistemului, concentrația și tipul solventului, pH-ul soluției, temperatura etc., pentru a controla stoechiometria complexilor și pentru a genera ansambluri moleculare cu stabilitate specifică.

Bibliografie selectivă

[1] Szejtli J, Osa T (eds). Comprehensive supramolecular chemistry, vol 3: Cyclodextrins. Pergamon, New York, 1999.

- [2] Neacsu A, Pincu E, Munteanu G, Munteanu C, Meltzer V. Characterization and comparison of the solid state inclusion compounds of α - , β - cyclodextrins and its 2-hydroxypropyl derivatives with uracil and 5-fluorouracil, *Rev. Chim.* 2017;12:2756-2760.
- [3] Rocha BA, Rodrigues MR, Bueno PCP, de Mello Costa-Machado AR, de Oliveira Lima Leite Vaz MM, Nascimento AP, Barud HS, Berretta-Silva AA. Preparation and thermal characterization of inclusion complex of Brazilian green propolis and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *J Therm Anal Calorim.* 2012;108:87-94.
- [4] Kavitha K, Srinivasa RA, Nalini CN. An investigation on enhancement of solubility of 5 fluorouracil by applying complexation technique - characterization, dissolution and molecular - modeling studies. *J App Pharm Sci.* 2013;3:162-166.
- [5] Schmidt KK, Baldrige, Boatz JA, Elbert ST, Gordon MS, Jensen JH, Koseki S, Matsunaga N, Nguyen KA, Su SJ, Windus TL. General Atomic and Molecular Electronic Structure System. *J Comput Chem* 1993;14:1347-1363.
- [6] Binning RC, Curtiss LA. Compact contracted basis sets for third-row atoms: Ga–Kr. *J Comput Chem* 1990;11:1206-1216.
- [7] Neacsu A, Neacsu A, Contineanu I, Munteanu G, Tanasescu S, Solid state study of the inclusion compounds of alpha-, beta- cyclodextrins with D-, L-tryptophan isomers, *Rev Rou Chim.* 2013;58(11):863-870.
- [8] Neacșu A. Physicochemical investigation of the complexation between γ -cyclodextrin and doxorubicin in solution and in solid state. *Thermochimica Acta.* 2018;661:51-8.