Universitatea "Babeş – Bolyai" Cluj – Napoca Facultatea de Fizică

TEZĂ DE DOCTORAT

INVESTIGAȚII STRUCTURALE ASUPRA UNOR COMPLECȘI MOLECULARI DE INTERES BIOMEDICAL

- Rezumatul tezei -

Conducător științific,

Prof.dr. Leontin David

Doctorand,

Ionuț – Bogdan Cozar

Cluj – Napoca 2011

C U P R I N S

INTROI	DUCERE	2
CAP. 1.	Bazele unor metode spectroscopice și ale teoriei funcționalei de densitate (DFT)	3
CAP.2.	Studii IR, Raman, SERS și DFT asupra paroxetinei	4
	2.1. Date generale asupra paroxetinei	4
	2.2. Detalii experimentale și teoretice	5
	2.3. Analiza spectrelor IR	6
	2.4. Spectrele Raman și SERS	7
CAP.3.	Studii vibraționale și DFT asupra moleculelor pindolol (PIN) și verapamil (VER)	9
	3.1. Caracterizarea moleculelor PIN și VER	9
	3.2. Spectrele IR ale PIN și VER	11
	3.3. Spectrele Raman și SERS ale PIN si VER	12
	3.4. Adsorbția moleculelor PIN și VER pe suprafața de argint	14
CAP.4.	Studii spectroscopice și DFT pe Atenolol (ATE) și Metoprolol (MET) și complecșii lor de cupru(II) 4.1.Caracterizarea moleculelor ATE și MET	15 15
	4.2. Spectrele IR și Raman ale ATE și MET	16
	4.3. Spectrele SERS ale ATE și MET	20
	4.4. Complecșii Cu(II) – ATE și Cu(II) – MET	21
CAP.5.	Studiul structurii unor complecși metalici cu liganzi de interes biomedical	24
	5.1. Complecși de cupru (II) cu aminoacizi marcați ¹⁵ N	24
	5.2. Identificarea unor specii monomere în cazul adsorbției pe zeoliți NaY și HY	25
	5.3. Rezultate IR și RMN asupra complexului de Pd(II) cu teofilină și bipiridină	27
	5.4. Informații structurale obținute prin difracție de raze X și calcule DFT	29
	Concluzii	30
	Bibliografie	33

CUVINTE CHEIE:

Biomolecule farmacologice, spectroscopie moleculară, calcule DFT, aminoacizi marcați izotopic – ¹⁵N, complecși metalici

INTRODUCERE

În prezent se pune tot mai mult accentul pe creșterea calității vieții, prin îmbunătățirea calității medicamentelor, a metodelor de investigație medicală, diagnostic și tratament, ele trebuind să fie cât mai eficiente, cu puține efecte secundare și cât mai complet elaborate.

În acest context studiile de spectroscopie moleculara (IR, Raman, SERS, RMN) asupra unor molecule de interes biomedical (medicamente, aminoacizi, complecși ai acestora) prezintă o importanță deosebită datorită posibilităților de corelare între datele de structură și dinamică moleculară furnizate de aceste metode și activitatea fiziologică a biomoleculelor și sistemelor moleculare conexe.

Datele structurale noi astfel obținute, conduc la înțelegerea mai profundă a proceselor fizico-chimice care au loc la interacțiunea ionilor metalici cu moleculele de ligand, locul unde aceștia coordinează, simetria structurii locale adoptate, acțiunea diferiților solvenți și efectele biologice induse precum și a stabilității lor față de anumiți agenți exteriori.

Aminoacizii marcați izotopic, ¹⁵N-Lizină și ¹⁵N-Ornitină sunt folosiți într-o varietate de studii, fiind standarde interne ideale pentru investigații cantitative a trasorilor marcați izotopic în studiile de nutriție, pentru a elucida detaliile metabolismului azotului in vivo și metabolismul proteinelor în diferite boli.

În mod similar complecșii metalici ai teofilinei sunt de mare importanță în stabilirea modului de interacțiune (coordinare) a ionilor metalici la derivații biologici purinici – adenina și guanina, componente majore ale ADN și ARN.

Datorită dezvoltării intense în ultimii ani a tehnologiei informației, atât din punct de vedere al hardului cât și al softului științific, calculele de chimie cuantică, respectiv modelarea teoretică prin teoria funcționalei de densitate DFT la nivel B3LYP/6-31G(d) au o contribuție majoră la determinarea structurilor moleculare, la interpretarea spectrelor experimentale cât și la calculul unor parametri fizico-chimici care nu pot fi determinați experimental.

Aceste informații sunt folosite în industria farmaceutică pentru îmbunătățirea activității terapeutice a medicamentelor sau la proiectarea și sinteza altor derivați noi, cu proprietăți farmaceutice dorite.

Cap.1. Bazele unor metode spectroscopice și ale teoriei funcționalei de densitate (DFT)

Spectroscopiile IR și Raman furnizează informații despre modurile de vibrație și vibrație-rotație ale moleculelor. Benzile de vibrație-rotație sunt în general observate când proba se găsește în stare gazoasă, caz în care moleculele sunt capabile să se rotească liber. În stare condensată, lichidă sau solidă, numai frecvențele de vibrație ale probei se pot observa. Spectroscopiile IR și Raman sunt tehnici complementare, întrucât tranzițiile permise în Raman pot fi interzise în IR sau invers, acestea fiind dependente de simetria moleculei [1-3].

Absorbția IR și împrăștierea Raman sunt metode spectroscopice optice ce oferă un mare conținut de informație structurală moleculară prin obținerea și identificarea diferitelor moduri de vibrație caracteristice legăturilor, grupurilor atomice din componența moleculelor investigate [4-7].

O atenție deosebită este acordată tehnicii SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering) care constă în amplificarea puternică a semnalului Raman dacă moleculele sunt adsorbite pe suprafața unor structuri metalice nanometrice [6-10]. Combinând informația structurală Raman cu limitele de detecție ultrasenzitive, efectul SERS permite elucidarea orientării spațiale a moleculelor adsorbite pe diferite suprafețe metalice chiar și la nivel unimolecular.

În cazul spectroscopiei RMN, pe lângă principiile de bază se insistă asupra "deplasării chimice", natura acesteia și utilizarea valorilor obținute experimental alături de datele IR și Raman pentru stabilirea modului de coordinare a ionilor metalici cu diferite molecule de interes biomedical [11-14].

În finalul capitolului sunt arătate principiile de bază ale metodei DFT, seturilor de bază utilizate în calcule de tip *Ab Initio* și DFT, funcții de bază de tip Slater și Gauss, seturi de bază minimale, seturi de bază cu pătura de valență despicată, seturi de bază extinse, calculul proprietăților moleculare specifice unor stări electronice date, a spectrelor IR și Raman [13-16]

O atenție deosebită este acordată teoriei funcționalei de densitate (DFT) cu funcționala hibrida de schimb-corelare B3LYP și seturile de baza standard 6-31G(d) utilizate pentru optimizarea geometriilor moleculare, calculul potențialului electrostatic molecular (MEP) și a spectrelor vibraționale.

Cap.2. Studii IR, Raman, SERS și DFT asupra paroxetinei

2.1. Date generale asupra paroxetinei

Investigațiile structurale pe compușii de interes biomedical și farmacologic au făcut obiectul mai multor studii raportate în ultimii ani în literatura de specialitate. În acest scop au fost utilizate metodele experimentale FTIR, Raman, SERS, RMN și calcule de chimie cuantică bazate pe teoria funcționalei de densitate (DFT) [17,18].

Astfel, caracterizarea structurala a **paroxetinei** (3S,4R)-3- [(1,3-benzodioxol-5yloxy)methyl]-4-(4-fluorophenyl)piperidină, un antidepresiv inhibitor selectiv a recaptării serotoninei este binevenită, în acest context. Paroxetina (Fig. 2.1.) este utilizată pentru tratarea depresiei majore, panică, anxietate socială, și tulburări de anxietate generalizată în ambulator pentru adulți [19].

Structurile compuşilor (3R,4S)- şi (3S,4R)-4-(4-fluorophenyl)- 3-hydroxylmethyl-1methylpiperidine, care sunt intermediari în sinteza produselor farmaceutice paroxetina şi femoxetina, au fost studiate anterior prin dicroism circular vibrațional (VCD) [20].



Fig. 2.1. Geometria optimizată B3LYP/6-31G(d) a paroxetinei cu numerotarea atomilor și inelelor (ringurilor)

Sarea de clorhidrat de paroxetina a fost studiată prin difracție de raze X arătându-se că există într-o formă hemihidrat non-higroscopică, termodinamic cea mai stabilă, sau într-o formă higroscopică anhidră, ultima formă convertindu-se în prima atunci când este expusă la umiditate sau când este comprimata. Caira et al. [21] au studiat complecșii de incluziune ai paroxetinei cu β-ciclodextrina urmărindu-se o consolidare a stabilității sale chimice precum și a solubilității.

Rezultatele structurale obținute prin metode spectroscopice vibrationale (FTIR, Raman și SERS), precum și a calculelor bazate pe teoria funcționalei de densitate (DFT) efectuate asupra moleculei de paroxetină sunt prezentate în lucrarea [22]. După cunoștințele noastre, atribuirea modurilor normale de vibrație ale paroxetinei pe baza spectroscopiilor IR și Raman cuplate cu calcule de chimie cuantică nu a mai fost făcută până acum.

2.2. Detalii experimentale și teoretice

Spectrul FTIR al probei de paroxetina sub formă de pulbere a fost înregistrat la temperatura camerei cu un spectrometru convențional Equinox 55 (Bruker, Germania), echipat cu un detector DTGS, cuplat cu un dispozitiv de prelevare ATR (Miracle, Pike Techn.).

Spectrul FT-Raman fost înregistrat cu o rezoluție de 4 cm⁻¹ într-o geometrie backscattering (retroîmprăștiere) cu un accesoriu FRA Bruker 106 / S Raman echipat cu un detector de Ge răcit cu azot. Ca sursă de excitație s-a utilizat laserul de 1064 nm Nd: YAG, puterea laserului măsurată la poziția eșantionului fiind de 300 mW.

Spectrul SERS a fost înregistrat cu ajutorul unui spectrometru DeltaNu Advantage (DeltaNu, Laramie, WY), echipat cu un laser Nd: YAG emiţând la 532 nm cu frecvenţă dublă. Puterea laserului a fost de 40 mW şi rezoluția spectrală de 10 cm⁻¹.

Substratul de argint coloidal SERS a fost preparat prin reducerea Ag+ cu hidroxilamină [9]. Valoarea pH-ului soluției de argint coloidal, măsurată imediat după preparare, a fost de 8.5.

Optimizarea geometriei moleculare, potențialul electrostatic molecular (MEP) și calculele spectrelor vibrationale au fost efectuate cu pachetul de software Gaussian 03W, prin utilizarea metodelor teoriei funcționalei de densitate (DFT) cu funcționala hibridă de schimbcorelare B3LYP și seturile de bază standard 6-31G(d) [13]. Nici o restricție de simetrie nu a fost aplicată în timpul optimizării geometriei. Frecvențele vibraționale au fost calculate la geometria optimizată pentru a se asigura că nici o frecvență imaginară nu a fost obținută, confirmând că acesta corespunde unui minim local pe suprafața de energie potențială.

2.3. Analiza spectrelor IR

Spectrele de absorbție IR, experimental și calculat, ale paroxetinei în intervalul spectral 600-3500 cm⁻¹ sunt prezentate în Fig.2.2.

Banda cea mai intensă în spectrul IR este observată la 1183 cm⁻¹ și este excelent reprodusă de calculele de chimie cuantică, atât ca poziție cât și ca intensitate.

Benzile situate la 765, 914 și 931 cm⁻¹ sunt cauzate de vibrații de îndoire (deformare) ale inelului piperidinic (1) și respectiv a grupului $C11H_2$.

Vibrațiile de deformare ale ringului3 contribuie în principal la benzile experimentale de la 781, 835, 944, 1097, 1183, 1247 și 1279 cm⁻¹, în timp ce modurile normale corespunzătoare ringului4 sunt asociate cu benzile experimentale de la 675 și 1381 cm⁻¹. Contribuțiile de la acest inel sunt de asemenea văzute în modurile normal atribuite benzilor de la 781 și 944 cm⁻¹.



Fig. 2.2. Spectrele IR, experimental și calculat, ale paroxetinei

2.4. Spectrele Raman și SERS

Benzile experimentale selectate SERS și FT-Raman, precum și numerele lor de undă și intensitățile relative calculate la nivel de teorie B3LYP/ 6-31G(d) sunt rezumate în Tabelul 2.1.

Modificări semnificative pot fi observate în pozițiile și intensitățile benzilor prin compararea spectrelor Raman și SERS ale paroxetinei, ca urmare a interacțiunilor moleculei cu suprafața nanoparticulelor de argint. Astfel, benzile SERS cel mai mult deplasate sunt cele observate la 966, 1140, 333, 533, 582 și 1285 cm⁻¹. Banda SERS de la 966 cm⁻¹ este deplasată spre albastru cu 20 de cm⁻¹ și corespunde în principal alungirilor CC din inelul1. Ea este de asemenea în mod semnificativ amplificată, oferind astfel o dovadă clară pentru existența unei interacțiuni puternice dintre inelul1 cu suprafața de argint.

După cum se poate observa în harta potențialului electrostatic molecular (MEP) a moleculei de paroxetina (Fig.2.3.) obținută din calcule DFT, sarcina negativa este situată în principal pe atomii de oxigen (O1, O3, O10) și atomul de azot (N22) al piperidinei.



Fig.2.3. Potențialul electrostatic 3D calculat la nivel B3LYP/6-31G(d) pentru paroxetină (u.a.) reprezentat pe izosuprafața de densitate electronică de 0.02 u.a.

În consecință este de așteptat ca adsorbția paroxetinei la suprafața nanoparticulelor din soluția coloidală de argint să aibă loc prin intermediul celor trei atomi de oxigen și a celui de azot. Acest fapt este ilustrat prin apariția benzii intense de la 243 cm⁻¹ în spectrul SERS, caracteristică vibrațiilor legăturilor Ag-O și Ag-N, fără nici un corespondent în spectrul

Raman normal. Valori similare au fost raportate și în literatura de specialitate pentru numerele de undă corespunzătoare vibrațiilor Ag-N [23] sau Ag-O [24].



Fig. 2.4. Geometria de adsorbție a moleculei de paroxetină pe suprafața nanoparticulelor de argint

Γable 2.1. O selecție de benzi SERS și FT-Raman împreună cu numerele de undă și intensitățile Raman calculate per	ntru
paroxetină.	

Experimen	tal wave	numbers (cm ⁻¹)		Calculated wavenumbers cm ⁻¹)		Band assignment
SERS	Is	FT-Raman	I _R	B3LYP I		Dunu ussignment
1605	41	1604	99	1603	50	v(CC ring3)+δ(CH ring3)
1504	11	1502	39	1514	33	δ(C2H ₂)
1452	26	1468	51	1444	37	δ(CH ₂ , CH, NH)
1363	47	1358	66	1355	18	$\delta(CH_2, CH ring1) + \delta(C11H_2)$
1288	20	1297	39	1285	40	$v(CC ring3)+\delta(CH, CH_2 ring1)$
1223	41	1218	92	1234	52	$\delta(\text{CCC ring2}) + \tau(\text{CH}_2)$
1198	31	1197	53	1178	45	v(C13C14)+δ(CH ring2)+δ(C13H)
1140	71	1159	42	1168	22	$\tau(C2H_2)+\nu(C7O10)$
1090	13	1094	27	1079	16	$\delta(OCC ring4) + \delta(ring3, ring4) + \nu(C11C12)$
1062	26	1063	21	1063	18	v(CO ring4)+δ(CCC ring3)+v(C11C7)
988	42	982	24	979	25	$\delta(\text{CCC ring1}) + v(\text{O2C11})$
966	37	946	13	969	30	v(CC ring1)+δ(CH, CH ₂ , NH ring1)
844	47	846	56	868	51	breathing(ring2)+δ(CH, CH ₂ , NH ring1)
812	67	805	100	835 100		breathing(ring3+ ring4)+δ(CH ring3)
715	22	720	35	734	54	v(CO ring4)+v(CC ring3)+δ(C2H ₂)
676	14	675	6	678	10	δ(ring1,3,4)+δ(O10C11C12)
631	28	635	35	650	39	v(CC ring2)+δ(CH ring2)
584	17	573	21	583	24	δ(ring1, ring2, ring3)
535	19	522	11	524	18	δ(CCC ring1,2,3)+δ(C7O10C11)
478	18	470	11	476	18	δ(ring1)
347	19	351	35	343	91	$\gamma(\text{ring3}, \text{ring 4}) + \rho(\text{C11H}_2)$
		253	26	252	99	δ(ring1, ring2)
243	100					v(AgO)+v(AgN)

I_s-SERS intensity, I_R-Raman Intensity; I-Intensity, ν- stretch, ν_s- symmetric stretch, ν_{as}- asymmetric stretch, δ- in plane bending, ρrocking, τ-twisting, ω -wagging, γ-out of plane bending, ring1: piperidine ring (N22-C21-C12-C13-C24-C23); ring2: fluorophenyl ring (C14-C15-C16-C17-C18-C19); ring3: benzene ring (C4-C5-C6-C7-C8-C9); ring4: dioxolane ring (O1-C2-O3-C5-C4) Mai mult decât atât, în scopul de a simula interacțiunea moleculei cu suprafața de argint am optimizat doi complecși formați între molecula de paroxetina și un atom de Ag situat în imediata apropiere a atomului N22 a moleculei sau în imediata apropiere a inelului dioxolane (O). A fost folosită funcționala B3LYP cu setul de bază 6-31G(d) pentru atomii moleculei și potențialul efectiv de miez Lanl2dZ și setul de bază pentru atomul de Ag. Numerele de undă obținute sunt 244 cm⁻¹ pentru vibrațiile Ag-N și 226 cm⁻¹ pentru vibrațiile Ag-O. În consecintă banda de la 243 cm⁻¹ este cu sigurantă rezultatul interacțiunii Ag-N22.

Pe baza analizei spectrelor SERS și Raman și luând în considerare harta MEP a acestei molecule și regulile de selecție SERS, a fost stabilit faptul că adsorbția paroxetinei la nanoparticule de argint se realizează prin atomii de oxigen (1, 3, 10) și azot (22).

Inelul benzodioxol este adsorbit într-o orientare înclinată, în imediata vecinătate a suprafeței de argint, în timp ce inelul piperidinic și cel benzenic sunt orientate perpendicular pe suprafața de argint (Fig. 2.4.).

Cap.3. Studii vibraționale și DFT asupra moleculelor pindolol (PIN) și verapamil (VER)

3.1. Caracterizarea moleculelor PIN și VER

Investigarea structurală a moleculelor pindolol (PIN) și verapamil (VER) (Fig.3.1.) este binevenită datorită implicațiilor lor în medicină. Astfel, pindololul este un beta-blocant neselectiv cu activitate parțială beta-adrenergică a receptorilor. În doze mari, el crește pulsul, tensiunea arterială și bronhodilatația, având de asemenea și efecte în stabilizarea membranei și antiaritmice [25]. Verapamilul este un blocant de tip-L a canalelor de calciu din clasa phenylalkylamine. Acesta a fost folosit în tratamentul hipertensiunii arteriale, anginei pectorale, aritmie cardiacă, și cel mai recent pentru durerile de cap. El este de asemenea un medicament eficace de prevenire pentru migrenă și mai eficace decât digoxinul în controlul frecvenței ventriculare [26].

În lucrarea [27] sunt prezentate o serie de rezultate importante asupra structurii pindololului obținute prin spectroscopie IR și prin teoria orbitalilor de legătură naturală (NBO), precum și cu privire la mecanismul de contracție a inelului de oxazinone la cel oxazolidinone. Astfel, Castro et al. [27] au identificat benzile vibraționale de absorbție caracteristice pindololului în stare solidă și a unui conformer izolat prin optimizarea structurii sale la nivel de teorie DFT cu funcționala B3LYP și setul de bază 6-31G.

O serie de studii teoretice și experimentale au fost prezentate anterior pe conformerii acestui compus în fază gazoasă și polimorfă [28].

Conformația cea mai stabilă de verapamil a fost determinată teoretic de Fernandez et al. [29] folosind abordari de mecanică moleculară. S-a arătat că cea mai mare stabilitatea conformațională este legată de aranjamentul coplanar al grupurilor fenil și ciano.



Fig.3.1. Structurile moleculare optimizate pentru pindolol (a) și verapamil (b)

În studiul de față, sunt analizate spectrele IR, Raman și SERS ale moleculelor PIN și VER corelate cu unele aspecte legate de structura acestora [30]. Atribuirea benzilor vibraționale s-a făcut în urma calculelor DFT.

Chattopadhyay et al [31] au arătat că geometria experimentală a pindololului este stabilizată prin două legături de hidrogen intra-moleculare NH...O și OH...O, astfel încât vibrațiile asociate acestor grupuri se așteaptă a fi influențate de interacțiunile prin punți de hidrogen.

De asemenea Nunes și colab. [28] au arătat că există diferite forme polimorfice a acestui compus, iar pindololul comercial prezintă două forme dintre acestea.

Astfel ca geometrie de pornire pentru procesul de optimizare în cazul pindololului s-a pornit de la structura obținută de Chattopadhyay et al [31] prin difracția de raze X găsită în baza de date DrugBank [32]. Aceeași sursă s-a folosit și pentru verapamil, configurația sa curbată fiind analoagă cu cea dată în articolul [29].

3.2. Spectrele IR ale PIN și VER

Geometria optimizată B3LYP/6-31G(d) a pindololului dată în Fig.3.1., este într-un acord surprinzător de bun, cu cea experimentală [31]. În plus, un conformer similar (E₂ notat TTTTTG') a fost identificat de către Nunes et al. [33], fiind definit de $\varphi_1 = 180.0^\circ$, $\varphi_2 = -177.0^\circ$, $\varphi_3 = 179.0^\circ$, $\varphi_4 = 177.0^\circ$ și $\varphi_5 = 172.0^\circ$. Unghiurile diedre calculate de noi (-178.7°, 178.8°, 175.3°, -177.3° și -166.8°) sunt în bună concordanță cu cele raportate în [33], fiind, de asemenea, în acord calitativ și cantitativ cu datele experimentale (177.2°, 162.2°, 176.9°, -178.0° și -162.6°) [31].



Fig. 3.2. Spectrul experimental FT-IR și calculat al PIN

După cum se poate observa din Fig. 3.2 și din datele rezumate în tabelul 3.1, pentru pindolol pot fi considerate ca reprezentative o serie de benzi. Diferențele minore ce apar între

atribuirile noastre prezentate în tabelul 3.1, și cele raportate de Castro et al. [27], se datoresc cel mai probabil din cauza diferențelor mici între cele două geometrii optimizate.

Astfel, banda de la 759 cm⁻¹ se datorează vibrației de îndoire în afara planului caracteristică grupului O14H. Banda de la 883 cm⁻¹ se datorează suprapunerii vibrației de deformare în afara planului a grupului N15H cu deformarea în plan a lanțului alifatic de carbon (C11C12C13). Vibrația de întindere a grupului C11O8 și vibrațiile de îndoire în plan a grupurilor CH apar la 1047 cm⁻¹.

Experimental	Calculated	
FT-IR	wavenumber*	Assignments
591	586	ip. ring1 deformation+ δ (CH ₂)+ δ (CH)
627	638	ip. ring1, ring2 deformation+ $\delta(CH_2)$ + $\delta(CH)$
721	724	γ(C-H) indole i.p.
759	746	γ(O14H)
821	814	$\delta(NH) + \rho(CH_3)$
883	900	γ(N15H)+ δ(C11C12C13)
1047	1040	ν(C11-O8)+δ(CH)
1060	1059	δ(C2N5C9)
1094	1089	ρ(C11-H2), v(C14-N15)i.p.+ γ(C12-OH)
1131	1119	δ (N5-H), δ (C-H) indole o.p.
1180	1190	$\rho(CH_2)+\delta(NH)+\delta(CH)$
1246	1230	δ(N5-H), δ(C7-H), δ(C10-H), δ(C6-H)i.p.
1286	1272	$\delta(C5-O10)+\delta(CH)+\delta(NH)$
1366	1351	$\delta(CCC \operatorname{ring1}) + \delta(CNC \operatorname{ring2}) + \delta(CH) + \delta(NH)$
1466	1478	$\delta(CH_2)+\delta(CH_3)+\delta(N15H)$
1508	1500	$\delta(N5-H)+\delta(C11H_2)$
1587	1579	v(C1=C2), v(C7=C10)
1617	1604	v(C1=C3), v(C6=C2)
2873	2871	v _s (C13H ₂)
2966	2945	v(C-H) aliphatic
3308	3348	v(N15-H)

Tabel 3.1. O selecție a benzilor experimentale FT-IRși numerele de undă calculate B3LYP/6-31G(d) pentru PIN (cm⁻¹)

v- stretch, v_s - symmetric stretch, v_{as} - asymmetric stretch, δ - in plane bending, ρ - rocking, γ -out-of-plane bending, def.-deformation, ip.-in plane, op.-out of plane

*-scaled values according to Scott and Radom [34]; ring1: benzene ring(C2-C1-C3-C7-C10-C6); ring2: pyrolline ring (C1-C2-N5-C9-C4)

Suprapunerea vibrațiilor în plan a grupurilor de inel, NH și CH, și de asemenea a grupului C5-O10 cu grupurile NH, CH, sunt situate la 1246 cm⁻¹ și 1286 cm⁻¹. Deformările din plan a grupurilor CCC și CNC din inelele benzenic și pyrollinic se suprapun la 1366 cm⁻¹.

O altă suprapunere intensă a vibrațiilor de îndoire în plan a grupurilor N5H și C11H2 apare la 1508 cm⁻¹. La numerele de undă mari 2873, 2966 și 3308 cm⁻¹ apar, de asemenea, vibrațiile de întindere a grupurilor alifatice C13H2, CH și a grupului N15H.

3.3. Spectrele Raman și SERS ale PIN și VER

Spectrele Raman, SERS și Raman calculat ale verapamilului sunt arătate în Fig. 3.3. O selecție a benzilor experimentale SERS, FT-Raman și cele calculate corespunzătoare intensităților Raman cele mai pronunțate sunt prezentate în Tabelul 3.2.



Fig.3.3. Spectrele SERS, FT-Raman și Raman calculat pentru VER

Tabel 3.2. O selecție a benzilor experimen	tale SERS, FT-Raman și ni	umerele de undă calculate B3LYP	/ 6-31G(d) pentru V	$VER (cm^{-1})$
, , ,	, , , , , , , , , , , , , , , , , , ,		× / I	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·

Exper	imental	Calculated				
SERS	SERS FT-Raman		Assignments			
238						
	267	264	ρ(CH ₃)			
378	385	383	δ(O31CH ₃ , O30CH ₃ , O16CH ₃ , O18CH ₃ , CH ₃)			
765	769	789	v(CC ring1)+ip. ring1 deformation+ δ (CH ring1)+ δ (CH ₃)+ v(C12O16, C15O18)			
1029	1035	1026	v(CC ring1)+v(O16CH ₃ , O18CH ₃)			
1330	1340	1338	$\delta(CH_2)+\rho(CH_2)+\nu(CC ring1)$			
1441	1450	1463	$\delta(CH_3)+\delta(CH_2)$			
1517	1519	1513	v(CC ring1)+δ(CH ring1)+v(C12O,C15O) δ(O16CH ₃ , O18CH ₃)+δ(CH ₃)			
1611	1606	1598	$v(CC ring2)+\delta(CH ring2)$			
2826	2840	2815	v(C20H54,C14H49,C21H56)			
2911	2940	2941	v _s (C10H ₃ ,C9H ₃ ,C3H ₂ ,C8H ₂)			
3045	3035	3035	v _{as} (C32H ₃ ,C33H ₃)			

stretch, v_{s} - symmetric stretch, v_{as} - asymmetric stretch, δ - in plane bending, ρ - rocking, γ -out-of-plane bending, def.-deformation, ip.-in plane, op.-out of plane *-scaled values according to Scott and Radom [34] ring1: benzene ring(C2-C6-C12-C15-C13-C7); ring2: benzene ring(C24-C29)

ν-

Comparând spectrele Raman și SERS ale moleculei VER, pot fi observate unele modificări semnificative în pozițiile benzilor și intensitățile acestora datorită interacțiunii acestei molecule cu suprafața de argint.



Fig.3.4. Potențialul electrostatic 3D calculat B3LYP/6-31G(d) pentru PIN (sus) și VER (jos) în unități atomice

3.4. Adsorbția moleculelor PIN și VER pe suprafața de argint

După cum se poate observa în distribuția MEP a moleculei PIN (Fig. 3.4) obținută prin calcule DFT, sarcina cea mai negativă este situată în principal pe atomii de oxigen (O8, O14) și pe atomii de azot (N15 din lanțul alifatic și N5 din inelul pirolinic). Astfel, atunci când molecula PIN este adăugată la soluția coloidală de argint, adsorbția acesteia pe suprafața de argint se presupune că are loc prin intermediul atomilor de oxigen (O8, O14).

Acest fapt este susținut de prezența benzii de la 240 cm⁻¹ din spectrul SERS al PIN, caracteristică pentru legătura Ag-O. Cu toate acestea, o adsorbție prin electronii π ai inelelor aromatice și de asemenea și prin cei doi atomi de azot (N5, N15), este la fel de plauzibilă, după cum arată harta MEP.

Putem astfel concluziona în final că întreaga moleculă PIN se întinde, este adsorbită pe suprafața de argint într-o orientare plată [35].

Benzile de la 769, 1035, 1340, 1450, 1519 cm⁻¹ din spectrul Raman al VER, datorate vibrațiilor C-C de întindere a inelelor 1 și 2, și vibrațiilor de deformare ale grupurilor CH_2 , CH_3 , cresc în intensitate în spectrul SERS și sunt deplasate la numere de undă mai mici (Tabelul 3.2).

În spectrul SERS al VER mai apare și o bandă intensă la 238 cm⁻¹ ca urmare a formării de legături Ag-O, datorate unor puternice interacțiuni ale atomilor de oxigen (O16, O18 și O30, O31) legați de inelele benzenice, cu suprafața de nanoparticule de argint.

Ținând seamă de regulile de selecție SERS [6,7] și de MEP a VER (Fig. 3.4), care arată că sarcina negativă este situată în principal pe cei patru atomi de oxigen (16, 18, 30, 31) putem concluziona în cele din urmă că molecula VER adoptă o poziție curbată pe suprafața de argint, puternic fixată prin atomii de oxigen și o orientare perpendiculară a inelelor benzenice pe aceasta.

Cap.4. Studii spectroscopice și DFT pe Atenolol și Metoprolol și complecșii lor de Cupru (II)

4.1. Caracterizarea moleculelor Atenolol (ATE) și Metoprolol (MET)

Atenololul (4-[2'-hydroxy-3'-[(1-methythyl)amino]propoxy]-benzeneacetamide - ATE) și metoprololul (1-(isopropylamino)-3-[p-(2-methoxyethyl)phenoxy]-2-propanol - MET), prezentate în Fig.4.1., sunt prescrise pe scară largă în medicină ca blocante adrenergice β_1 cardioselective [36,37].

Deoarece diferite conformații sau enantiomeri de astfel de molecule pot influența în mod drastic comportamentul lor fizico-chimic și activitatea farmacologică, cunoașterea structurilor lor este de cea mai mare importanță.

În continuare sunt prezentate și discutate spectrele IR, Raman și SERS ale ATE și MET, precum și spectrele IR și RES ale complecsilor lor de cupru. Atribuirea benzilor de vibrație s-a făcut prin calcule DFT la nivelul de teorie B3LYP/6-31G(d).



Fig.4.1. Geometriile optimizate B3LYP-6-31G(d) ale (S) – atenololului (a) și (R,S)atenololului (b), metoprololului (c) și complexului metoprolol – doi anioni de suscinat (d)

Studiile raportate anterior privind proprietățile vibraționale ale ATE sunt axate în special pe interacțiunile prin legăturile de hidrogen [36] și pe interacțiunea dintre ATE și β -ciclodextrine.

Pe de altă parte, după cunoștințele noastre, nici o analiză detaliată vibrațională nu a fost raportată până în prezent pentru metoprolol. Structura de raze-X a ultimului compus a fost recent raportată [38], arătându-se că MET cristalizează într-o formă N-protonată, fiind legat pe bază de punți de hidrogen la doi anioni succinați.

4.2. Spectrele IR și Raman ale ATE și MET

Pentru a calcula spectrele vibraționale ale celor două molecule, am folosit geometriile lor optimizate la nivel de teorie B3LYP/6-31G(d).

Cei doi conformeri (R, S) - și (S)-ATE diferă în orientarea relativă atât a părții acetamidă cât și a lanțurilor de metil-etil-amino-propoxy (Fig.4.1.). Există diferențe destul de mari între unghiurile diedrale definite de aceiași atomi în cei doi conformeri ai ATE, dar diferența energetică dintre acești conformeri este însă destul de scăzută, de cca. 1.14 kcal / mol, conformerul (S) fiind cel mai stabil.

Pentru MET am optimizat formele protonată și neprotonată, precum și complecsul molecular format între cationul MET N-protonat și doi anioni succinați legați prin punți de hidrogen folosind ca geometrii de pornire structurile experimentale [38].

Principala diferență dintre MET HB și non-HB este o orientare ușor diferită a celor două grupuri terminale CH₃ comparativ cu grupul vecin amino, precum și o schimbare în lungimile legăturilor H₂C-NH₂ și H₂N-CH. Astfel, în conformerul non-HB, cele două lungimi de legătură sunt 1.510 și 1.531 Å, în timp ce pentru complexul MET-2 succinat acestea sunt semnificativ mai scurte (1.494 și 1.508 Å).

Câteva din rezultatele experimentale obținute împreună cu numerele de undă calculate și atribuirile sugerate de rezultatele DFT sunt arătate în Tabel 4.1. și Fig. 4.2.

În general, spectrele calculate IR și Raman pentru conformerii (S) - și (R, S)-ATE sunt similare, atât în pozițiile benzilor cât și intensitățile lor. După cum se vede în Tabelul 4.1., modurile Q4, Q8, Q9, Q12, Q14 și Q21 sunt prezise la fel de bine pentru ambii conformeri (S) și (R, S). Apar totuși unele diferențe pentru cei doi conformeri, fie între numerele de undă, fie intensitățile calculate, față de cele experimentale. Astfel de moduri sunt: Q11, Q13, Q15, Q17, Q18, Q22, Q24, Q26 și Q28.

Modurile Q11, Q18 și Q25 sunt prezise numai pentru conformerul (S), în timp ce pentru Q13, Q15, Q24, Q26 și Q28 același conformer prezice pozitii și / sau intensități de bandă mai bune, în comparație cu conformerul (R, S). Așa cum se arată în Tabelul 4.1., ambii conformeri prezic modul Q17 prea mare în energie și mult mai slab decât s-a văzut în spectrul experimental, în timp ce modul Q22 este prezis bine în poziția sa, dar, din nou, mult mai slab decât omologul său experimental.

Pe baza acestei analize am ajuns la concluzia că enantiomerul (S) este în principal responsabil pentru apariția spectrelor IR și Raman ale ATE, chiar dacă sunt prezente și unele contribuții ale conformerului (R, S).

Acest lucru este în acord perfect cu Ruperez și Laserna [39] care au arătat în plus că formele racemic și (S) ale ATE pot fi diferențiate în funcție de cele două benzi Raman de la 1609 și 1038 cm⁻¹, a doua bandă fiind caracteristică pentru amestecul racemic.

Mode Experimental			Calcula	Assignments			
	-		(S)-	ATE	(RS)	-ATE	-
	FT-						
	IR/ATR	Raman	IR	Raman	IR	Raman	
Q1			3588 vw		3586 vw	3586 w	v(OH)
Q2	3356 s		3574 w	3574 vw	3554 vw	3554 w	$v_a(NH_2)$
Q3	3174 m		3453 vw	3453 m	3437 vw	3437 m	$v_{s}(NH_{2})$
Q4		3070 s		3089 m	3052 vw	3087 s	v(CH ring)
Q5	2965 w	2969 s	2990 w		3007 vw	3007 s	$v_a(CH_3)$
Q6	2924 w	2915 vs		2923 vs	2952 vw	2933vs	$v_{s}(CH_{3})$
Q7	1670 sh	1681 w					v(CO)
Q8	1637 vs		1736 vs	1736 vw	1736 vs	1736 vw	v(CO)
Q9	1612 w	1612 s	1607 w	1608 s	1607 w	1607 s	v(CC ring)
Q10			1571 s	1570 s	1587 s		$\delta(NH_2)$
Q11	1583 vw	1583 w	1567 vw	1567 vw			v(CC ring)
Q12	1517 m		1504 m		1503 m		$v(CC ring) + \delta(CH ring) + \delta(CH_2)$
Q13		1450 m		1449 w	1475 w	1461 w	$\delta(CH_3)$
Q14	1418 w	1421 w	1408 vw		1407 vw		$\delta(COH) + \omega(CH_2)$
Q15	1302 vw	1301 m	1310 w	1312 vw	1334 m		$\delta(OCNH_2) + \delta(CCC ring)$
Q16	1243 m	1243 w	1245 s	1277 w	1244 vs	1267 vw	$\omega(CH_2)$
Q17		1205 s	1229 m	1228 vw	1226 m	1226 vw	$\delta(CH) + \delta(OH) + \delta(CCC ring)$
Q18	1180 vw	1183 m		1186 vw	1		$v(CC)+\delta(CCC \operatorname{ring})+\omega(CH_2)$
Q19		1141 m	1158 w	1166 vw	1135 vw	1149 vw	$v(HC-NH)+\rho(CH_3)$
Q20	1038 vw	1038vw	1025 w		1030 w		ν (C-O)+ ρ (CH ₃)+ δ (CH ring)
Q21	886 vw	886 m	888 vw	887 vw		888 w	ring breathing
Q22		859 vs		869 vw	1	865 vw	δ(CCC ring)
Q23	829 vw	829 m		826 vw	817 vw	836 vw	$\delta(\text{CCC ring}) + \rho(\text{NH}_2)$
Q24	712 vw	722 m	749 vw	749 vw	759 vw	759 vw	δ(NH)
Q25		638 m		653 vw	1 1 1		$\delta(\text{CCC ring}) + \tau(\text{NH}_2)$
Q26	568 vw	568 vw	558 vw		597 w		$\tau(ring)+\delta(OC-NH_2)$
Q27	427 vw		429 vw		430 vw		δ(OH)
Q28		368 vs	256 vs	362 vw	372 vs	345 vw	$\omega(NH_2)$
vs – verv s	strong s – stro	ng m – medium	w-weak vw	– verv weak sl	ı – shoulder		

 Tabel 4.1. Spectrele vibraționale ale atenololului, experimentale și calculate la nivel B3LYP/6-31G(d) în [cm⁻¹]

 Mode
 Experimental

 Calculated*
 Assignments

* scaled wavenumbers according to the procedure proposed by Scott and Radom [34]

Spectrele vibraționale ale MET sunt prezentate în Fig.4.2. În urma comparației numerelor de undă experimentale cu cele calculate DFT pentru MET (MET⁺) N-protonat și pentru complexul MET⁺-2 anioni de succinat (MET⁺-2 SA²⁻) s-a ajuns la următoarele concluzii.

Diferența majoră dintre spectrele date de către cele două structuri apare în regiunea numerelor de undă mari. Astfel, modurile Q1-Q3 ale MET⁺-2 SA²⁻, sunt reproduse așa cum era de așteptat, mai bine la numere de undă semnificativ mai mici decât în cazul MET⁺ nelegat prin punți de hidrogen. În special, cele două benzi de la 2451 și 2550 cm⁻¹ în spectrul IR experimental sunt calitativ și aproape și cantitativ reproduse de complecsul legat prin H.

Pe de altă parte, pentru același complex, deplasarea spre roșu a benzii v(OH) pare a fi mult prea pronunțată. O explicație pentru acest comportament poate fi dat având în vedere diferența dintre distanța intermoleculară OH...O calculată și cea experimentală pentru acest complex HB.

Valoarea calculată (2.667 Å) este semnificativ mai mică decât cea dată de experiment (2.723 Å) [38]. Același comportament se observă pentru lungimile celor două legaturi NH din grupul amino ale căror valori experimentale sunt 2.745 Å și 2.796 Å, în timp ce valorile lor calculate sunt 2.692Å și 2.708Å.



Fig.4.2. Spectrele FT-IR/ATR și FT-Raman pentru metoprolol

Lipsa grupului carbonil în acest compus face posibilă evidențierea clară a benzii corespunzătoare modului $\delta(NH_2)$ de la 1634 cm⁻¹ în spectrul IR. Sunt prezise valori diferite pentru această bandă în complexul MET⁺-2 SA²⁻, variind de 1593 la 1639 cm⁻¹, ca urmare a suprapunerii vibrațiilor v_{as}(CO₂).

Pozițiile și intensitățile modurilor Q15 și Q16 sunt prezise de calculele pentru MET⁺ în concordanță perfectă cu experimentul.

Celor două benzi intense din spectrul IR de la 1251 și 1114 cm⁻¹ le corespund benzi slabe în spectrul Raman. Numerele lor de undă și intensitățile lor sunt reproduse excelent de calculele DFT, pentru ambele structuri MET⁺ și MET⁺-2 SA²⁻.

Cele două benzi intense din spectrul Raman de la 848 și 821 cm⁻¹ sunt atribuite vibrației de respirație a inelului și respectiv vibrațiilor CH de inel din afara planului. Menționăm de asemenea că vibrația de respirație de inel pentru MET⁺ este deplasată spre roșu cu 38 cm⁻¹, comparativ cu cea din compusul ATE.

4.3. Spectrele SERS ale ATE și MET

Având în vedere că valoarea pKa pentru protonarea celor două molecule este de 9,7 și pentru că soluția utilizată pentru măsurătorile SERS are pH=8,5, spectrele SERS vor fi analizate luându-se în considerare formele protonate ale ATE și MET.

Spectrele Raman și SERS ale ATE au fost investigate în prealabil de către Ruperez și Laserna [39]. În timp ce spectrele lor sunt înregistrate în intervalul 680-3080 cm⁻¹ și excitate cu o rază laser de 488 nm, spectrele noastre sunt înregistrate în domeniul 200-3300 cm⁻¹, fiind excitate la 532 nm.

Comparând spectrele Raman și SERS, pot fi observate mai multe schimbări în poziția benzilor și intensităților, datorită interacțiunii moleculei ATE cu suprafața metalică. Teoretic, interacțiunea ATE cu suprafața de argint se poate realiza prin perechile de electroni liberi ai atomilor de oxigen și azot ai moleculei ATE sau prin electronii π ai inelului benzenic.

Potențialul electrostatic molecular calculat (MEP) al ATE arată că sarcina negativă este localizată în principal pe atomii de oxigen și pe inelul aromatic, atomii de azot având sarcina mai pozitivă. Având în vedere acestea, adsorbția moleculei ATE pe suprafața de argint are loc prin atomii de oxigen. Cu toate acestea și adsorbția prin electronii π ai inelului aromatic, este de asemenea plauzibilă după cum indică distribuția MEP calculată.

O altă bandă puternic amplificată în spectrul SERS este cea de la 1398 cm⁻¹, cu un umăr la 1423 cm⁻¹. În spectrul Raman al ATE neprotonat numerele de undă corespunzătoare sunt 1421 și 1450 cm⁻¹, în timp ce pentru forma protonată, calcule DFT le prezic la 1424 și respectiv 1454 cm⁻¹.

Primul peak se datorează deformărilor COH și CH₂, în timp ce al doilea corespunde deformărilor CH₃ din partea alifatică a lanțului atașat ringului. După cum se vede în spectrul SERS, aceste benzi sunt în mod semnificativ deplasate spre roșu în raport cu spectrul Raman

normal, sugerând interacțiunea moleculei cu suprafața de argint prin intermediul grupului de COH.

Tot amplificată este și banda de la 919 cm⁻¹. Pentru molecula ATE protonată, este prezisă o bandă Raman intensă la 930 cm⁻¹ și o alta la 899 cm⁻¹, corespunzând vibrațiilor δ (OH) și ρ (NH₂) cuplate cu deformarea unghiului H₃C-CH-CH₃.

Lărgirea acestei benzi este de așteptat, așa cum se observă de fapt în spectrul SERS, datorită diferitelor posibile aranjamente ale moleculelor ATE în imediata vecinătate a suprafeței de argint. Prin urmare, se presupune că întregul lanț alifatic se află în imediata vecinătate a suprafeței, adsorbția moleculei ATE având loc prin intermediul celor doi atomi de oxigen ai lanțului.

Spectrul SERS al MET arată benzi amplificate în mod semnificativ la 1609, 1396, 1360 și 1332 cm⁻¹. Banda de la 1609 cm⁻¹ sugerează o interacțiune puternică a inelului aromatic cu suprafața, în timp ce a doua este similară cu cea observată în spectrul SERS al ATE la 1398 cm⁻¹, atribuite la vibrații similare, deformări ale grupurilor metilen și metil.

Următoarele două benzi (de la 1360 și 1332 cm⁻¹) nu apar în spectrul SERS al ATE, fiind caracteristice moleculelor MET, ambele dintre ele implicand răsucirea grupului NH₂.

Banda SERS de la 1360 cm⁻¹ corespunde benzii Raman de la 1351 cm⁻¹ (modul Q20), în timp ce a patra bandă pare a fi cea din spectrul Raman deplasată spre albastru la 1299 cm⁻¹ (modul Q21).

Banda de respirație de inel de la 848 cm⁻¹ în spectrul Raman apare doar ca o bandă slabă la 844 cm⁻¹ în spectrul SERS, fiind mai puțin amplificată decât banda corespunzătoare din spectrul SERS al ATE. Astfel, în conformitate cu regulile SERS [6,7] putem presupune pentru MET, o orientare mai plată (paralelă) a inelului fenilic corespunzător cu suprafața de argint în comparație cu molecula ATE.

Mai mult decât atât, așa cum se arată în Fig.4.1., molecula ATE este steric împiedicată de amidă și cele două grupuri de metil să se întindă cu inelul aromatic paralel la suprafață. Pe de altă parte, conformația încovoiată a MET permite o așezare mai paralelă a inelului aromatic cu suprafața în timp ce capetele moleculei sunt depărtate de suprafața de argint.

4.4. Complecșii Cu (II)-ATE și Cu(II)-MET

Complecșii moleculari Cu (II)-ATE și Cu (II)-MET au fost preparați pornindu-se de la sărurile benzoat de sodiu și sulfat de cupru prin metoda co-precipitării. Spectrele FT-IR ale acestor complecși moleculari sunt prezentate în Fig.4.3.

Banda intensă IR de la 3356 cm⁻¹ (Tabelul 4.1), atribuită grupului NH_2 al atenololuli, este deplasată la 3452 cm⁻¹, după complecsarea cu cupru. De asemenea, banda foarte

puternică v(C=O) de la 1637 cm⁻¹ din spectrul IR al ATE este deplasată la 1655 cm⁻¹ în spectrul complexului Cu-ATE, arătând implicarea acestui atom de oxigen în coordinare. Banda v_{sym} a grupului NH₂ situată la 3174 cm⁻¹ în spectrul ATE se deplasează la un număr de undă mai mare (3375 cm⁻¹), sugerând clivajul legăturilor de hidrogen în timpul complecsării.

Banda corespunzătoare vibrației δ (OC-NH₂) este deplasată spre roșu de la 568 cm⁻¹ în ligandul liber la 514 cm⁻¹ în complex. De asemenea, o noua bandă apare în spectrul complexului la 459 cm⁻¹ confirmând din nou coordinarea ATE la ionul Cu (II), prin intermediul grupului carbonil.

Menționăm de asemenea, că nici una din benzile IR v(C=C) și δ (CCC), nu se deplasează ca urmare a complecsării față de spectrul ATE. Pe de altă parte, banda de la 1418 cm⁻¹ din spectrul IR al ligandului liber dispare aproape complet în spectrul complecsului Cu-ATE [40].

Ca și în cazul complexului Cu-ATE, pentru spectrul IR al complexului Cu-MET prezentat în Fig.4.3., banda caracteristică vibrațiilor v(C=C) de inel de la 1512 cm⁻¹ rămâne aproape nedeplasată față de cea a liganzilor liberi. Același comportament se observă și pentru benzile de la 1459 și 1178 cm⁻¹, atribuite vibrațiilor δ (CH₃) și respectiv δ (CCC inel).

Modul Q18 apare la 1395 cm⁻¹ (deplasat spre albastru de la 1384 cm⁻¹ din ligandul liber), iar banda de la 1299 cm⁻¹, observată pentru ligandul liber la 1300 cm⁻¹ (modul Q21) se reduce drastic în intensitate. De asemenea, banda de la 1235 cm⁻¹ în spectrul MET apare în spectrul IR al complexului ca o bandă largă cu intensitate redusă la 1241 cm⁻¹.

Benzile largi de la 1611 și 1459 cm⁻¹ în spectrul complexului sunt atribuite, în conformitate cu Padmanabhan *et al.* [41], pentru vibrațiile v_{as} și $v_s(CO_2^-)$ ale anionilor succinați legați la ionul de Cu (II).

Spectrul Raman al complexului (nu sunt prezentate aici) prezintă, de asemenea, două benzi la 236 cm⁻¹ și 204 cm⁻¹, care sunt atribuite vibrațiilor Cu-O cu atomii de oxigen din anionii succinați.

Astfel, datele prezente arată că, ionul de Cu(II) este coordinat de către atomii de oxigen ai anionilor succinați în mod similar cu situația raportată de către Padmanabhan *et al.* [41] și Vuckovic *et al.* [42].

Comparând forma spectrului și valorile parametrilor caracteristici RES (A_{\parallel} , g_{\parallel} , g_{\perp}) a complexului Cu (II)-ATE cu cele obținute pentru alți complecși de Cu (II) cu liganzi de azot și oxigen, putem concluziona că simetria locală din jurul ionului metalic este de tip pătratplanară cu un cromofor CuN₂O₂ în planul xOy [43]. Un astfel de cromofor este posibil ca urmare a coordinării a două molecule ATE, fiecare dintre ele fiind legată la ionul de Cu (II) prin atomii de oxigen și azot din cadrul grupurilor de amidă [44].



Fig.4.3. Spectrele FT-IR ale complecșilor moleculari Cu-ATE și Cu-MET.

Spectrul complexului Cu (II)-MET sugerează prezența a două specii monomerice, una dintre ele cu stare fundamental $d_x^2 \cdot y^2$ (cu $g_{\parallel} > g_{\perp}$), iar cealaltă cu starea fundamentală d_z^2 (caracterizată prin $g_{\perp} > g_{\parallel} = 2.0023$).

Ultima specie este un caz foarte rar de simetrie locală, care sugerează existența unor legături Cu-O puternice pe direcția Oz în cazul compusului Cu (II)-MET, cel mai probabil datorită coordinării anionilor succinați la ionul metalic.

Cap.5. Studiul structurii unor complecși metalici cu liganzi de interes biomedical

5.1. Complecși de cupru (II) cu aminoacizi marcați ¹⁵N

Complecșii aminoacizilor (AA) cu ioni ai metalelor biologic active, în special cupru (II), au reținut o atenție deosebită datorită faptului că aceștia sunt agenți antibacterieni foarte buni, suplimente nutritive pentru oameni și animale, precum și modele pentru metaloproteine [45].

Multi aminoacizi naturali constituie fragmente esențiale în formarea proteinelor, acestea fiind specii chimice indispensabile pentru realizarea unui mare număr de funcții, procese biologice. Complecșii metalelor de tranziție cu aminoacizi din proteine și peptide sunt utilizați în numeroase procese biologice, cum ar fi cel de transportor de oxigen, transferul de electroni și oxidare. În aceste procese, site-ul enzimatic activ formează complecși cu ionii metalici bivalenți [46].

Grupurile principale implicate în complecsarea ionilor cupru (II) cu aminoacizi sunt α -amino și carboxilat precum și cel terminal ω -amino. Implicarea terminalului ω -NH2 și grupurilor α NH2 / carboxilat în coordinarea ionilor Cu(II) de către L-lizină și L-ornitina este analizată de Conato et al. [47].

Modul de complecsare a ionului Cu(II) cu diferiți aminoacizi (AA) ca glicină, alanină, histidină, serina, prolina tirozina, fenilalanina, glutamina, acid glutamic, cisteina, leucina, arginina, etc a fost subiectul de investigație a numeroase lucrări științifice.

In general coordinarea ionului Cu(II) de către doi α - aminoacizi se realizează prin câte un azot amino si un oxigen carboxil, adică o coordinare de forma NNOO sau o legătură tip glicină.

Aminoacizii marcați izotopic, 15N-Lizină și 15N-Ornitină sunt folosiți într-o varietate de studii, fiind standarde interne ideale pentru investigații cantitative ale trasorilor marcați izotopic în studiile de nutriție, pentru a elucida detaliile metabolismului azotului in vivo și metabolismul proteinelor în diferite boli [48]. Toate aceste studii cer măsurători precise de

abundența izotopică pentru fiecare izotop marcator prin spectrometrie de masă cuplată cu gazcromatografia și RMN.

În continuare se prezintă un studiu comparativ IR între aminoacizii D, L-lizină și D, L-Ornitină și formele lor marcate izotopic [¹⁵N]. Prin spectroscopie RES este investigat de asemenea și comportamentul complecșilor de cupru (II) ai acestor aminoacizi pe zeoliți de tip NaY și HY [49].

5.2. Identificarea unor specii monomere în cazul adsorbției pe zeoliți NaY și HY

Ionul Cu^{2+} este înconjurat de doi atomi de N și doi atomi de O din grupurile α -amino și carboxilat într-o coordinare planar-pătrată prin legarea a două molecule de lizină sau de ornitină.

Spectrele caracteristice celor doi compuși investigați în soluții apoase la temperatura camerei arată rezolvate cele patru linii hiperfine caracteristice cuprului ($I_{Cu} = 3/2$) tipice pentru o viteză mare de rostogolire a compușilor în soluții.

Liniile superhyperfine-¹⁵N ($I_N = 1/2$) datorate interacțiunii electronului paramagnetic cu două nuclee de azot echivalente apar clar rezolvate pe linia hiperfină a cuprului de la câmp înalt (+3/2) în compusul cu lizină. Despicarea izotropică hiperfină a azotului este de 18G (17,8 x 10⁻⁴ cm⁻¹), iar valorile izotropice g₀ și A₀ sunt 2,122; 2,126 și respectiv 67,5; 68,4G pentru compusul cu ornitină și lizină.

Spectrele RES ale acestor compuși adsorbiți pe zeoliții NaY și HY sunt prezentate în Fig.5.1.

Speciile monomere de tip $Cu(AA)_2^{2+}$ imobilizate în supercage-urile (poziții de tip III) zeolitului de tip NaY (Fig. 5.1b), ce are cavitați cu diametru ~ 13 Å și un conținut de apă de 26,4%, au o simetrie octaedrală - tetragonal alungită datorită coordinării a două molecule de apă la ionul Cu²⁺ de-a lungul axei Oz (pozițiile apicale).

În cazul zeolitului HY cu un conținut de apă de 13% și diametre mai mici ale cavităților (~ 8 Å), au fost evidențiate (Fig. 5.1a) două specii monomere diferite, magnetic neechivalente.

Primele specii monomere având parametri RES $g_{II} = 2,251$, $A_{II} = 173,7 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ pentru compusul Cu(II) – ¹⁵N – Lizină și $g_{II} = 2,251$, $A_{II} = 177,9 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ pentru Cu(II) – ¹⁵N – Ornitină pot fi considerate de asemenea imobilizate în pozițiile de tip III ale supercage-urile.

Simetria lor locală este de asemenea octaedrală (O_h) – tetragonal distorsionată analoagă celor din zeolitul de tip NaY. Totuși în acest caz cele două molecule de apă coordinate la ionul Cu²⁺ de-a lungul axei O_z sunt mai puternic legate la acesta decât în cazul

zeolitului NaY, conducând la o perturbație axială efectivă și deci la o formă de tip hexacoordinat a ionului Cu^{2+} .



Fig.5.1. Spectrele RES ale compusului $Cu(II) - {}^{15}N - Lizină$ adsorbit pe zeoliții HY (a) și NaY (b) la temperatura camerei

A doua categorie de specii monomere evidențiate în zeolitul HY sunt localizate pe pereții cavităților în pozițiile S_{\parallel} , iar grupurile OH(OH₂) sunt mai puternic coordinate la ionul Cu²⁺ decât moleculele de apă din interiorul (centrul) cavităților, determinând în final o simetrie locală distorsionată piramidal – patratică C_{4v}.

Valorile parametrilor RES caracteristici pentru toate speciile monomere sugerate de spectrele experimentale în cazul compusului $Cu(II) - {}^{15}N - Lizină$ sunt date în Tab.5.1.

Sample	σ_{\parallel}	σ	A	A	α^2	β^2	G	f
Swiipie	B	B⊥		. I I		P	0	-
nowder	2.252	2.063					4.10	
powder	2.217	2.054	202.3	22.5	0.839	0.626	4.13	109.70
absorbed on NaY zeolite	2.245	2.056	184.7	19	0.819	0.725	4.50	121.54
absorbed on HY zeolite	2.251	2.060	173.7		0.795	0.765	4.29	129.59
	2.310	2.073	198.7		0.930	0.809	4.33	116.25
absorbed on HY zeolite after suppl. dehydr.	2.373	2.075	139	19.2	0.828	0.845*	5.09	170.71
	Sample powder absorbed on NaY zeolite absorbed on HY zeolite after suppl. dehydr.	Sampleg_ powder2.2522.2172.217absorbed on NaY zeolite2.245absorbed on HY zeolite2.2512.3102.310absorbed on HY zeolite2.373	Sample g_{\parallel} g_{\perp} powder 2.252 2.063 powder 2.217 2.054 absorbed on NaY zeolite 2.245 2.056 absorbed on HY zeolite 2.251 2.060 absorbed on HY zeolite 2.251 2.060 absorbed on HY zeolite 2.310 2.073 absorbed on HY zeolite 2.373 2.075	$\begin{array}{ c c c c } & g_{\parallel} & g_{\perp} & A_{\parallel} \\ & & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & &$	$ \begin{array}{c c} Sample & g_{\parallel} & g_{\perp} & A_{\parallel} & A_{\perp} \\ \\ & & & \\ powder & 2.252 & 2.063 & & \\ 2.217 & 2.054 & 202.3 & 22.5 \\ \hline absorbed on NaY zeolite & 2.245 & 2.056 & 184.7 & 19 \\ absorbed on HY zeolite & 2.251 & 2.060 & 173.7 & \\ 2.310 & 2.073 & 198.7 & \\ \hline absorbed on HY zeolite & 2.373 & 2.075 & 139 & 19.2 \\ \hline after suppl. dehydr. & & \\ \end{array} $	$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	$ \begin{array}{c c c c c c c c c } & g_{\parallel} & g_{\perp} & g_{\parallel} & A_{\parallel} & A_{\perp} & \alpha^2 & \beta^2 \\ & & & & & & & & & & & & & & & & & & $	$ \begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $

Tabel 5.1. Parametri RES ai complexului $Cu(II) - {}^{15}N - Lizină la temperatura camerei[*]$.

* - parametri hiperfini sunt dați în 10⁻⁴cm⁻¹

Valorile parametrilor RES ($g_{\parallel} = 2,373$; $A_{\parallel} = 139 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$) caracteristici speciilor monomere care apar pentru compusul de lizină în zeolitul HY după o deshidratare suplimentară la 80^{0} C sugerează o simetrie de tip tetraedral (T_d) în jurul ionului de Cu²⁺. In acest caz una sau două molecule de lizină sunt înlocuite de grupările OH, H₂O ale suprafeței suport.

5.3. Rezultate IR și RMN asupra complexul de Pd(II) cu teofilină și bipiridină

Modul de coordinare al ionilor metalici la derivații biologici importanți purinici adenina și guanina, care sunt componente majore ale ADN și ARN - și xanthinei și hipoxantinei, care sunt componente minore ale ARN a fost investigat de mai multe grupuri de cercetători [50].

Complecșii metalici ai xanthinei - teofilinei (Fig. 5.2), teobrominei și cafeinei N-metil substituite, sunt de asemenea de interes major, deoarece acești liganzi pot servi drept modele pentru o serie de analogi biologici importanți. Datorită asemănării sale cu guanina, teofilina a fost cel mai mult studiată.

Cele două vibrații de întindere ale grupului (C = O) (1637 cm⁻¹; 1695 cm⁻¹) din spectrul IR al complexului, sunt înregistrate la numere de undă mai mici decât în spectrul IR al teofilinei libere (1717 cm⁻¹, 1669 cm⁻¹). Aceste deplasări se datorează în principal deprotonării teofilinei la atomul N(7) și coordinarii anionului theophylinat prin acest atom la ionul metalic [51].

Vibrațiile v(C=N) sunt de asemenea deplasate spre numere de undă mai mici, datorită coordinării teofilinei prin intermediul atomului N(7) și a atomilor N(2) și N(2'), în cazul ligandului 2,2"-bipyridină.



Fig.5.2. Structura teofilinei.

În cazul complecșilor metalici cu teofilină unde aceasta coordinează prin atomul N(7), grupul carbonil este în general legat prin punți de hidrogen cu alți liganzi din sfera de coordinare a metalului.

Tabel 5.2. Atribuirea benzilor de vibrație pentru liganzi	şı complexul
$[Pd(th)_2(2,2'-bipy)] \cdot H_2O(cm^{-1})$	

Compus	v(OH)	v(NH)	ν(CH)	v(C=O)	v(C=N)
Theophylline	3348 w	3122 m	2985 m	1717 s	1568 s
$(C_7H_8N_4O_2)$			2825 m	1669 vs	
2,2 [°] -Bipyridine	3151-3000 m		1577 vs		
$(C_{10}H_8N_2)$			2925 m		1560 s
$[Pd(th)_2(2,2'-bipy)]$ ·H ₂ O	3463 w		3118-3050 w	1695 vs	1529 s
			2949 w	1637 vs	

Spectrul ¹H-RMN al teofilinei conține patru singleți la 13,57, 8.04, 3.44, 3.23 ppm care sunt atribuiți protonilor N(7)H, C(8)H și celor din cele două grupuri metilice.

Absența rezonanței protonului din grupul HN(7) din spectrul ¹H-RMN al complexului demonstrează faptul că teofilina coordinează în formă deprotonată. Deplasarea chimică a semnalului HC(8) spre valori mai mici cu 0,36 ppm în compusul $[Pd(th)_2(2,2^{2}-bipy)]$ ·H₂O este încă o dovadă în plus că teofilina coordinează prin atomul adiacent N(7).

Spectrul ¹H-RMN al 2,2[']-bipyridină, prezintă patru semnale la 8.71, 8.41, 7.84 și 7.33 ppm, care sunt atribuite respectiv protonilor HC(5), HC(2), HC(3), HC(4). Datorită coordinării, rezonanțele protonilor HC(5) și HC(2) sunt deplasate chimic spre valori mai mici, iar rezonanțele HC(3) și HC(4) sunt deplasate spre valori mai mari.

5.4. Informații structurale obținute prin difracție de raze X și calcule DFT

Din structura moleculară a complexului $[Pd(th)_2(2,2'-bipy)] \cdot H_2O(C_6H_{14})$ obținută prin difracție de raze-X, rezultă că atomul de paladiu este legat la două molecule de teofilină prin atomul deprotonat N(7), precum și molecula 2,2'-bipyridine prin cei doi atomi de azot. Poliedrul de coordinare a atomului metalic adoptă o geometrie planar-patrată distorsionată.

Liganzii bipyridină se împachetează de-a lungul axei c (Fig.5.3); distanța dintre centrele a două inele de benzen a fragmentelor parțial suprapuse de bipyridină este de 3.56 Å, tipică pentru interacțiunile $\pi \cdots \pi$ de împachetare [52].

Optimizarea DFT a structurii compusului $[Pd(th)_2(2,2'-bipy)]$ a fost efectuată cu programul Gaussian '98, pornind de la o geometrie pre-optimizată prin raze-X în PC Spartan Pro. Calculele au intrebuintat functionala de schimb B3LYP folosind setul de baza LANL2DZ. Imaginea Molekel a structurii optimizate pentru $[Pd(th)_2(2,2'-bipy)]$ este arătată în Fig. 5.4 [15].



Fig. 5.3. Împachetarea $\pi \dots \pi$ prin inelele bipyridinice în cristal a compusului [Pd(th)₂(2,2[']-bipy)]·H₂O·(C₆H₁₂)



Fig. 5.4. Vedere Molekel a structurii optimizate a complexului [Pd(th)₂(2,2'-bipy)]

În structura optimizata coordinarea pătrata este aproape planară. Mai mult, atomii inelelor 2,2'-bipyridinice sunt aproape coplanari și moleculele purinice sunt de asemenea practic planare. În structura din faza solidă, inelele 2,2'-bipyridinice sunt răsucite în jurul legaturii de carbon 1,1', unghiul diedru N2-C1-C1'-N2' fiind -7.5°, care este cu 3,3° mai mare decât media pentru complecșii de paladiu care conțin o unitate bipyridinică. Aceste abateri de la planaritate pot fi atribuite efectelor de împachetare.

CONCLUZII

Concordanța foarte bună între spectrele experimentale FTIR, FT-Raman și SERS ale paroxetinei cu cele obținute pe baza calculelor teoretice DFT atestă o foarte bună optimizare a geometriei moleculare.

Pe baza analizei spectrelor SERS și Raman și luând în considerare harta MEP a acestei molecule și regulile de selecție SERS, a fost stabilit faptul că adsorbția moleculei de paroxetină pe suprafața nanoparticulelor de argint se realizează prin atomii de oxigen O1, O3, O10 și azot N22.

Inelul benzodioxol este adsorbit într-o orientare înclinata, în imediata vecinătate a suprafeței de argint, în timp ce inelul piperidină și cel benzenic sunt orientate perpendicular pe suprafața de argint.

Urmând același procedeu pentru moleculele pindolol (PIN) și verapamil (VER) a fost dedus și în cazul acestora modul de adsorbție pe suprafața nanoparticulelor de argint. Conform hărții MEP în cazul moleculei PIN sarcinile cele mai negative sunt localizate pe atomii de oxigen O8, O10 și atomii de azot N15 din lanțul alifatic și N15 din ringul pirolinic, adsorbția acestei molecule pe suprafața de argint coloidal se face prin acești atomi, dar și prin intermediul electronilor π ai ringurilor aromatice, într-o orientare aproximativ paralelă la suprafață.

În cazul moleculei VER sarcinile cele mai negative sunt localizate pe atomii de oxigen O16, O18, O30, O31, concluzionându-se că ea adoptă o configurație încovoiată față de suprafața de argint, fiind puternic fixată prin atomii de oxigen, iar ringurile benzenice având o orientare perpendiculară pe aceasta.

Benzile vibraționale ale spectrelor experimentale IR, Raman și SERS pentru moleculele pindolol (PIN) și verapamil (VER) au fost atribuite pe baza calculelor teoretice DFT.

Interacțiunea atomilor de oxigen cu suprafața de argint este ilustrată prin prezența benzilor SERS la 238 - 240 cm⁻¹ datorită apariției legăturilor Ag-O pentru ambele molecule investigate (PIN și VER).

O altă descriere detaliată a spectrelor vibraționale IR și Raman s-a făcut pentru moleculele atenolol (ATE) și metoprolol (MET) în urma unor calculele de chimie cuantică finalizate la nivel de teorie B3LYP/6-31G(d) și efectuate pe modele adecvate în cazul fiecăreia: doi conformeri de tip S și RS pentru ATE, și două modele de compuși pentru MET, adică forma protonată MET⁺ și cea complexată cu doi anioni succinați MET⁺-2SA²⁻.

Comparând spectrele experimentale IR și Raman cu cele calculate DFT s-a ajuns la concluzia că în cazul atenololului predomină conformerul de tip S, iar în cel al metoprololului (MET) compusul cu doi anioni succinați MET⁺-2SA²⁻.

Pe baza spectrelor și a regulilor de selecție SERS s-a demonstrat că adsorbția moleculelor ATE și MET pe nanoparticule de argint se realizează prin atomii de oxigen și electronii π ai inelului fenilic, acesta situându-se în imediata vecinătate a suprafeței de argint.

Din spectrele IR, Raman și RES ale complecșilor metalici Cu(II)-ATE și Cu(II)-MET s-au obținut informații privind modul de coordinare a ionilor de cupru (II). Astfel în cazul Cu-ATE coordinează două molecule de ATE în jurul ionului de cupru, într-un aranjament planar-patratic cu cromoforul CuN₂O₂, în timp ce pentru

compusul Cu-MET sunt implicați în coordinare numai atomi de oxigen, CuO₄, cu precădere de la anionii succinați.

Prin compararea spectrelor IR ale lizinei și ornitinei marcate izotopic [¹⁵N] cu cele nemarcate [¹⁴N] au fost evidențiate unele deplasări izotopice în frecvențele de vibrație ale legăturilor care implică atomi de azot.

Spectrele RES ale complecșilor Cu (II) - [¹⁵N]-Lizină (Ornitină) adsorbiți pe zeoliți NaY și HY ne-a permis identificarea și stabilirea simetriei locale a patru specii monomere care apar în supercage-urile acestora.

Factorul empiric de deformare tetragonal (f) are valori în intervalul 109-120 care arată că aceste specii monomere au, în principiu, un aranjament planar-patratic ușor distorsionat.

Pentru toate aceste specii, legătura σ în plan are un caracter ionic ($\alpha^2 \cong 0,80$), în timp ce legătura π în plan este mai covalentă ($\beta^2 \cong 0,73$) decât cea de tip σ .

O simetrie distorsionată tetraedral (Td) în jurul ionului Cu^{2+} (f = 170) a fost evidențiată în cazul complexului de cupru ¹⁵N-lizină adsorbit pe zeolitul HY după o deshidratare suplimentară la 80⁰C.

Comparând spectrele IR și RMN ale compusului [Pd(th)₂(2,2'-bipy)] H₂O cu cele ale moleculelor de ligand s-a constatat că teofilina coordinează la ionul metalic prin atomul N7 într-o formă deprotonată, iar radicalul 2,2'-bipiridinic prin atomii N2 și N2'.

Deprotonarea teofilinei la atomul N7 este argumentată prin deplasarea celor două vibrații de întindere IR (1717 cm⁻¹, 1669 cm⁻¹) ale grupării carboxil C = O spre numere de undă mai mici (1695 cm⁻¹, 1637 cm⁻¹) în complexul cu paladiu, precum și lipsa semnalului protonului N(7)H din spectrul ¹H-RMN al complexului.

De asemenea și deplasările chimice ale C(8) și C(5) din spectrul 13 C – RMN al complexului [Pd(th)₂(2, 2'–bipy)] · H₂O spre valori mai mari cu 6,97 ppm respectiv 5,66 ppm indică coordinarea teofilinei prin atomul N(7).

Datele obținute prin difracție de raze X pe monocristal și calculele DFT au arătat că $[Pd(th)_2(2, 2'-bipy)] \cdot H_2O$ are o structură planar-patrată distorsionată în jurul ionului Pd(II), abaterea de la planaritate datorându-se efectului de împachetare prin interacțiuni $\pi \dots \pi$ ale inelelor benzenice.

Bibliografie

- S. Aştilean, Metode şi tehnici moderne de spectroscopie optică, vol.I, Spectroscopia IR şi Raman, Ed. Casa Cărții de Ştiință, Cluj-Napoca, 2002
- T.Iliescu, S.Cântă-Pânzaru, D.Maniu, R.Grecu, S.Aştilean, Aplicații ale Spectroscopiei vibraționale, Ed.Casa Cărții de Știință, Cluj-Napoca, 2002
- L. David, O. Cozar, C. Cristea, L. Gaina, Identificarea structurii moleculare prin metode spectroscopice, Ed. Presa Universitară Clujeană, 2002
- N.Leopold, J.R. Baena, M.Bolboacă, O.Cozar, W.Kiefer, B.Lendl, Vibr. Spectroscopy, 36, 47(2004)
- N.B.Colthup, L.H.Daly, S.E.Wilberley, Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, Acad.Press, San Diego, 1990
- M. Baia, S. Aştilean, T. Iliescu, Raman and SERS Investigations of Pharmaceuticals, Ed. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2008
- T. Iliescu, S. Pînzaru, Spectroscopia Raman şi SERS cu aplicaţii în biologie şi medicină, Ed. Casa cărţii de ştiinţă, Cluj-Napoca, 2011
- N. Leopold, Surface Enhanced Raman Spectroscopy Selected Applications, Ed. Napoca Star, 2009
- 9. N. Leopold, B. Lendl, J. Phys. Chem., B107, 5723(2003)
- L. Szabo, V. Chiş, A. Pîrnău, N. Leopold, O. Cozar, Sz. Orosz, J. Molec. Struct., 924-926, 385(2009)
- C.P. Slichter, Principles of Magnetic Resonance, Third enlarged and updated edition, Ed. Springer – Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1996
- R. Fechete, D.E. Demco, D.C. Moldovan, R.I. Chelcea, E. Culea, Rezonanța Magnetică Nucleară – Metode clasice și moderne, Ed. Risoprint, Cluj-Napoca, 2010
- V. Chiş, A. Pîrnău, T. Jurca, M. Vasilescu, S. Simon, O. Cozar, L. David, Chem. Phys., 316, 153(2005)
- A.Pîrnău, Corelări teoretice-experimentale în analiza unor compuşi de interes biomedical, Ed.Presa Univ.Clujeană, 2007
- P. Flukiger, H.P. Luhti, S. Portmann, J. Weber, MOLEKEL 4.2, Swiss Center for Scientific Computing, Manno (Switzerland), 2000–2002
- N. Leopold, V. Chiş, <u>I.B. Cozar</u>, L. Szabo, A. Pârnău, O.Cozar, Opt. Adv. Mater. Rapid Commun., 2, 278(2008)
- 17. T. Hesterkamp, J. Barker, A. Davenport, M. Whittaker, Curr. Top. Med. Chem., 7, 1582(2007)

- N. Beckmann, R. Kneuer, H.U. Gremlich, H. Karmouty-Quintana, F.X. Blé, M. Müller, NMR Biomed, 20, 154(2007)
- 19. S.J. Mathew, R.B. Price, D.C. Shungu, X. Mao, E.L.P. Smith, J.M. Amiel, J.D. Coplan, J. Psychopharmacol, 24, 1175(2010)
- M. Urbanova, V. Setnicka, P. Bour, H. Navratilova, K. Volka, Biopolymers, 67(4–5), 298(2002)
- M.R. Caira, E. de Vries, L.R. Nassimbeni, V.W. Jacewicz, J. Incl. Phenom. Macro. Chem., 46, 37(2003)
- <u>I.B. Cozar</u>, L. Szabo, D. Mare, N. Leopold, L. David, V. Chiş, J. Molec. Struct., 993, 243(2011)
- 23. S. Mishra, R.K. Singh, A.K. Ojha, Chem. Phys., 355, 14(2009)
- 24. P.S. Mdluli, N.M. Sosibo, N. Revrapasadu, P. Karamanis, J. Leszczynski, J. Mol. Struct., 935, 32(2009)
- 25. J. Ballesteros, L.F. Callado, J.Affect.Disord., 79, 137(2004)
- 26. E.Beck, W.J.Sieber, R.Trejo, Am. Fam. Phys., 71, 717(2005)
- 27. R.A.E. Castro, J. Canotilho, S.C.C. Nunes, M.E.S. Eusébio, J.S. Redinha, Spectrochimic. Acta A; 72, 819(2009)
- 28. S.C.C. Nunes, M.E. Eusébio, M.L.P. Leitão, J.S. Redinha, Int. J. Pharm., 285, 13(2004)
- 29. B. Fernandez, R. Mosquera, E. Uriarte, Inter. J. Pharm., 79, 199(1992)
- <u>I.B. Cozar</u>, L. Szabo, N. Leopold, V. Chiş, O. Cozar, L. David, J. Molec. Structure, 993, 308(2011)
- 31. T.K. Chattopadhyay, R.A. Palmer, D. Mahadevan, J.Chem. Crystallogr., 25, 195(1995)
- 32. D.S. Wishart, C. Knox, A.C. Guo, D. Cheng, S. Shrivastava, D. Tzur, B. Gautam,
 M. Hassanali, Nucl. Acids Res., 36(2008) ((Database Issue):D901-6.
 PMID:18048412)
- 33. S.C.C. Nunes, A.J. Lopes Jesus, M.T.S. Rosado, M.E.S. Eusébio, J. Mol. Struct. (Theochem), 806, 231(2007)
- 34. A.P. Scott, L. Radom, J. Phys. Chem. 100, 16502(1996)
- 35. <u>I.B. Cozar</u>, L. Szabo, O. Cozar, N. Leopold, V. Chiş, L. David, IR, SERS and DFT Study of Pindolol and Verapamil Drugs, 30th European Congress on Molecular Spectroscopy, Florence(I), 29Aug. – 3 Sept. 2010, p.100
- 36. R.A. E. Castro, J. Canotilho, R.M. Barbosa, J.S. Redinha, Spectrochim. Acta A, 67, 1194(2007)

- 37. I.B. Cozar, L. Szabo, N. Leopold, V. Chiş, L. David, Rom. J. Phys., 55, 772(2010)
- 38. G. Bartolucci, B. Bruni, S.A. Coran, M. Di Vaira, Acta Cryst., E65, o1364(2009)
- 39. Ruperez, J.J. Laserna, Anal. Chim. Acta, 335, 87(1996)
- 40. O. Cozar, L. Szabo, <u>I.B. Cozar</u>, N. Leopold, L. David, C. Căinap, V. Chiş, J. Molec. Struct., 993, 357(2011)
- 41. M. Padmanabhan, S.M. Kumary, X.Huang, J. Li, Inorg. Chim. Acta, 358, 3537(2005)
- 42. G. Vuckovic, M. Antonijevic-Nikolicb, T. Lis, J. Mrozinski, M. Korabik, D.D. Radanovic, J. Molec. Struct., 872, 135(2008)
- 43. E. Manoj, M.R.P. Kurup, A. Punnoose, Spectrochim. Acta A, 72, 474(2009)
- 44. Z. Wang, D.R. Powell, R.P. Houser, Inorg. Chim. Comm., 12, 511(2009)
- 45. M.Z. Iqbal, S. Kurshid, M.S. Iqbal, J. Pak, Med. Assoc., 40, 221(1990)
- 46. T.Vemrlinov, S.Arpadjan, I.Karadjova, J.Beattie, Acta Pharm., 56, 105(2006)
- 47. C.Conato, A.Contino, G.Maccarrone, A.Magri, M.Remelli, G.Tabbi, *Thermochimica Acta*, 362, 13(2000)
- D.Mavri-Damelin, S.Eaton, L.H.Damelin, M.Rees, H.J.Hodgson, C.Selden, Int.J.Biochem. Cell Biol., 39, 555(2007)
- 49. O. Cozar, I. Bratu, L. Szabo, <u>I.B. Cozar</u>, V. Chiş, L. David, J. Molec.Struct., 993, 397(2011)
- 50. T. J. Kistenmacher, D. J. Szalda, L. G. Marzilli, Inorg. Chem., 14, 1686(1975)
- 51. E. Forizs, A. Debreczeni, A. Patrut, A.Z. Kun, <u>I.B. Cozar</u>, L. David, I. Silaghi-Dumitrescu, Rev. Roum. de Chimie, 55(10), 697(2010)
- 52. H.C. Freeman, M. R. Snow, Acta Cryst., 18, 843(1965)