



UNIUNEA EUROPEANĂ



GUVERNUL ROMÂNIEI



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013

**UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE**

Rezumatul tezei de doctorat

**STUDII DE INCLUZIUNE ȘI SEPARARE A UNOR
COMPUȘI BIOCHIMICI UTILIZÂND RECEPTORI
MACROCICLICI**

Doctorand:

Elena-Iulia Cucolea

Conducător doctorat:

Prof. dr. Lucia Mutihac

2016

CUPRINS

(numerotarea paginilor este cea din teza de doctorat)

Introducere.....	1
PARTEA DE LITERATURĂ	
PARTEA EXPERIMENTALĂ	
Capitolul IV. Hemicucurbiturilul în procese de recunoaștere ale unor nucleobaze	59
IV.1. Considerații generale	59
IV.2. Condiții experimentale	60
IV.2.1. Reactivii utilizați și aparatura	60
IV.2.2. Modul de lucru	61
IV.3. Rezultate și discuții	62
IV.3.1. Influența pH-ului.....	62
IV.3.2. Complexarea unor nucleobaze cu hemicucurbit[n]uril.....	64
IV.3.2.1. Studiul complexării hemicucurbit[6]urilului cu adenina și citozina prin spectrometrie UV-Vis	65
IV.3.3. Aspecte privind complexarea guaninei cu cucurbit[7]uril.....	68
IV.3.3.1. Studiul complexșilor cucurbit[7]uril -guanină prin spectrometria UV-Vis și de fluorescență	68
IV.3.4. Determinarea stoichiometriei și a constantei de asociere pentru complexul cucurbit[7]uril - citozină prin spectrometria de fluorescență.....	71
IV.3.5. Determinarea stoichiometriei și a constantei de asociere pentru complexul cucurbit[7]uril - adenină prin spectrometria de fluorescență	73
IV.4. Concluzii	74
Capitolul V. Aspecte privind recunoașterea moleculară a nucleobazelor cu derivați ai β-ciclodextrinei.....	75
V.1. Introducere	75
V.2. Considerații generale privind studiul complexșilor formați între ciclodextrine și nucleobaze prin spectrometria UV-Vis și de fluorescență	76
V.2.1. Determinarea constantei de asociere a complexșilor supramoleculari.....	76
V.3. Condiții experimentale	79
V.3.1. Reactivi utilizați și aparatura	79
V.3.2. Modul de lucru	80
V.4. Rezultate și discuții.....	82
V.4.1. Aspecte privind complexarea guaninei cu β -ciclodextrina	83
V.4.1.1. Studiul complexșilor β -CD – guanină utilizând spectrometria UV-Vis	83
V.4.1.2. Studiul complexșilor β -CD–guanină utilizând spectrometria de fluorescență	85
V.4.2. Aspecte privind complexarea adeninei cu β -ciclodextrina	88
V.4.2.1. Studiul complexșilor β -CD – adenină utilizând spectrometria UV-Vis	89

V.4.2.2. Studiul complexelor β -CD – adenină utilizând spectrometria de fluorescență	91
V.4.3. Aspecte privind complexarea citozinei cu β -ciclodextrina și cu 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina	93
V.4.3.1. Studiul complexării citozinei cu β -ciclodextrina.....	94
V.4.3.1.1. Studiul complexelor β -CD– citozină utilizând spectrometria UV-Vis	94
V.4.3.1.2. Studiul complexelor β -CD–citozină utilizând spectrometria de fluorescență.....	96
V.4.3.2. Studiul complexării citozinei cu 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina....	98
V.4.3.2.1. Studiul complexelor 2-HP β CD – citozină utilizând spectrometria UV-Vis	99
V.4.3.2.2. Studiul complexelor 2-HP β CD–citozină utilizând spectrometria de fluorescență.....	100
V.4.4. Aspecte privind complexarea timinei și uracilului cu β -ciclodextrina	103
V.5. Concluzii.....	104
Capitolul VI. Hemicucurbit[n]urilul, n = 6,12 în procese de separare ale aminoacizilor.....	106
VI.1. Hemicucurbit[n]urilul, n = 6,12 ca agent de extracție al unor aminoacizi.....	106
VI.1.1. Considerații generale	106
VI.1.2. Echilibre de repartitie în sistem bifazic	107
VI.1.3. Condiții experimentale.....	108
VI.1.3.1. Reactivi și aparatura utilizată.....	108
VI.1.3.2. Modul de lucru	110
VI.1.4. Rezultate și discuții	111
VI.1.4.1. Extracția lichid-lichid a unor aminoacizi cu hemicucurbit[n]uril, n = 6,12	111
VI.1.4.1.1. Extracția lichid-lichid a L-fenilalaninei nativă și derivatizată cu HemiCB[n], n = 6,12	111
VI.1.4.1.2. Extracția lichid-lichid a L-cisteinei native și derivatizată cu HemiCB[n], n = 6,12.....	113
VI.1.4.1.3. Extracția lichid-lichid a L-Leucinei native și derivatizată cu HemiCB[n], n = 6,12.....	114
VI.1.4.1.4. Extracția lichid-lichid a L-valinei native și derivatizată cu HemiCB[n], n = 6,12.....	115
VI.1.4.1.5. Extracția lichid-lichid a L-serinei metilester și a L-tirozinei metilester cu HemiCB[n], n = 6,12	116
VI.1.4.2. Influența timpului de agitare al fazelor	118
VI.1.5. Concluzii	120
VI.2. Aspecte privind transportul prin membrane lichide de volum al unor aminoacizi utilizând ca transportor hemicucurbit[6]urilul.....	120
VI.2.1. Condiții experimentale.....	120
VI.2.1.1. Reactivi și aparatura utilizată.....	120

VI.2.1.2. Modul de lucru	121
VI.2.2. Rezultate și discuții	123
VI.2.2.1. Hemicucurbit[6]uril în transportul prin membrane lichide de volum	123
VI.2.2.1.1. Aspecte privind corelația dintre extractibilitatea aminoacizilor derivatizați și transportul acestora cu HemiCB[6]	125
VI.2.2.1.2. Etapele procesului de transport prin membrane lichide de volum	126
VI.2.2.1.3. Mecanismul de transport prin membrana lichidă de volum având ca transportor HemiCB[6].....	128
VI.2.2.2. Transportul unor aminoacizi alifatici prin membrane lichide de volum cu heptakis (2,3,6-tri-O-acetil)- β -ciclodextrina	128
VI.2.3. Concluzii	130
Capitolul VII. Separarea unor nucleobaze prin extracție lichid-lichid și transport prin membrane lichide de volum.....	132
VII.1. Considerații generale	132
VII.2. Studiul extracției lichid-lichid a unor nucleobaze.....	133
VII.2.1. Condiții experimentale	133
VII.2.1.1. Reactivi și aparatura utilizată.....	133
VII.2.1.2. Modul de lucru.....	134
VII.2.2. Rezultate și discuții.....	134
VII.2.2.1. Influența structurii receptorului asupra extracției lichid-lichid a unor nucleobaze.....	134
VII.2.2.2. Studiul extracției unor nucleobaze cu D ₂ EHPA	137
VII.2.2.2.1. Influența concentrației de D ₂ EHPA	137
VII.2.2.2.2. Influența pH-ului	139
VII.2.2.2.3. Echilibre de distribuție în extracția lichid-lichid a adeninei cu D ₂ EHPA	140
VII.3. Studiul transportului adeninei prin membrană lichidă de volum.....	142
VII.3.1. Condiții experimentale	142
VII.3.1.1. Reactivi și aparatura utilizată.....	142
VII.3.1.2. Modul de lucru.....	142
VII.3.2. Rezultate și discuții.....	143
VII.3.2.1. Influența concentrației de D ₂ EHPA din faza membranară.....	143
VII.3.2.2. Influența concentrației adeninei din faza sursă.....	145
VII.3.2.3. Mecanismul de transport prin membrana lichidă de volum	147
VII.4. Concluzii	148
Concluzii generale	150
Perspective.....	154
Referințe bibliografice.....	155
Diseminarea rezultatelor	171

INTRODUCERE

Chimia supramoleculară s-a remarcat prin impactul semnificativ și asupra chimiei analitice, versatilitatea și diversitatea receptorilor macrociclici sintetici impunând tehnicilor actuale noi limite și performanțe remarcabile [1-3]. Cercetările actuale întreprinse de chimia supramoleculară privind principiile de recunoaștere moleculară a compușilor biologici de către receptorii macrociclici se datorează spectrului larg de aplicații practice în separări, imagistică moleculară, detecție, cataliză și tehnici farmaceutice.

În contextul acestor preocupări, cercetările întreprinse în teza de doctorat intitulată *„Studii de incluziune și separare a unor compuși biochimici utilizând receptori macrociclici”*, își propun introducerea de noi receptori macrociclici în procese de recunoaștere moleculară și de separare (extracție lichid-lichid și membrane lichide de volum) a unor compuși de interes biologic.

Principalele obiective ale tezei de doctorat sunt următoarele:

- a) Studiul complexării nucleobazelor (adenină, citozină, guanină, timină și uracil) cu următorii receptori macrociclici: hemicucurbit[6]uril, hemicucurbit[12]uril, cucurbit[7]uril, β -ciclodextrina, 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina prin spectrofotometria de absorbție în UV-Vis și spectrometria de fluorescență.
- b) Introducerea unor noi receptori macrociclici din clasa cucurbiturilului (hemicucurbit[6]uril și hemicucurbit[12]uril) ca extractanți și transportori prin membrane lichide de volum ale unor aminoacizi în vederea separării acestora. De asemenea s-a studiat optimizarea parametrilor de extracție cât și a parametrilor de transport prin membrane lichide.
- c) Studii privind posibilitățile de separare ale nucleobazelor (adenină, citozină, uracil, timină) prin extracția lichid-lichid și prin membrana lichidă de volum utilizând receptori macrociclici.
- d) Stabilirea mecanismelor de transport prin membrana lichidă de volum ale nucleobazelor și aminoacizilor utilizând receptorii macrociclici studiați ca transportori în procesele de separare.

Teza de doctorat este prezentată pe parcursul a șapte capitole fiind structurată în două părți principale după cum urmează: partea de literatură cu trei capitole și partea experimentală cu patru capitole.

În *primul capitol* se realizează o introducere în domeniul aplicațiilor analitice ale chimiei supramoleculare. De asemenea, sunt prezentate succint principalele clase de compuși relevanți din punct de vedere biologic întâlniți în chimia gazdă-oaspete.

În *capitolul al II-lea și al III-lea* sunt prezentate caracteristicile structurale și proprietățile de recunoaștere moleculară ale receptorilor macrociclici din clasa cucurbiturilului și a ciclodextrinelor. Versatilitatea și potențialul receptorilor macrociclici din clasele menționate sunt evidențiate prin multitudinea de aplicații prezentate într-o manieră sintetică pe baza celor mai recente studii din domeniu.

Partea originală a tezei de doctorat, în care sunt cuprinse rezultatele experimentale obținute în cadrul studiilor întreprinse este structurată în patru capitole. În primele două capitole (*capitolul IV și capitolul V*) sunt prezentate aspecte privind recunoașterea moleculară a nucleobazelor (adenina, guanina, citozina, timina și uracil) de către receptori macrociclici din clasa cucurbiturilului (hemicucurbit[6]uril, hemicucurbit[12]uril, cucurbit[7]uril) și receptori ciclodextrinici (β -ciclodextrina, 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina) prin spectrofotometria de absorbție în UV-Vis și spectrometria de fluorescență.

În *capitolul VI* sunt prezentate rezultatele obținute în procesele de extracție lichid-lichid și transport prin membrane lichide de volum ale unor aminoacizi nativi și metilesteri în vederea separării acestora utilizând receptorii noi hemicucurbit[6]uril și hemicucurbit[12]uril. Mecanismele de transport implicate în procesul membranar au fost de asemenea stabilite. *Capitolul VII* este dedicat proceselor de extracție și transport prin membrane lichide de volum ale unor nucleobaze folosind receptori sintetici, având în vedere și mecanismele de transport implicate. Ultimul capitol este dedicat concluziilor generale rezultate în cadrul cercetărilor întreprinse.

Teza se încheie cu referințele bibliografice și lista lucrărilor științifice publicate cu rezultatele obținute în cadrul cercetărilor întreprinse.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

(numerotarea capitolelor, figurilor, tabelelor și a ecuațiilor este cea din teza de doctorat)

Capitolul IV. Hemicucurbiturilul în procese de recunoaștere ale unor nucleobaze

În acest capitol sunt prezentate datele experimentale obținute prin spectrofotometria de absorbție moleculară în UV-Vis și spectrometria de fluorescență privind procesul de complexare al unor nucleobaze cu hemicucurbit[6]uril (HemiCB[6]) și hemicucurbit[12]uril (HemiCB[12]). De asemenea, se continuă experimentele de

recunoaștere ale adeninei și citozinei cu cucurbit[7]uril [298] și prin spectrometria de fluorescență. Mai mult se extinde posibilitatea de recunoaștere a lui cucurbit[7]uril către guanină atât prin spectrometrie UV-Vis, cât și prin spectrometrie de fluorescență.

Capitolul V. Aspecte privind recunoașterea moleculară a nucleobazelor cu derivați ai β -ciclodextrinei

V.1. Introducere

Ciclodextrinele sunt printre cele mai studiate clase de receptori macrociclici și sunt recunoscute pentru potențialul aplicativ în sistemele biologice datorită capacității de a forma complecși de incluziune în soluție apoasă cu specii neutre [191,201,205,297].

În acest capitol am studiat posibilitatea complexării β -ciclodextrinei native și derivatizate cu o serie de nucleobaze, prin spectrometria de absorbție în UV-Vis și spectroscopia de fluorescență. Folosind datele experimentale obținute s-a determinat stoichiometria și s-a estimat constanta de asociere a complecșilor formați.

V.3. Condiții experimentale

V.3.1. Reactivi utilizați și aparatura

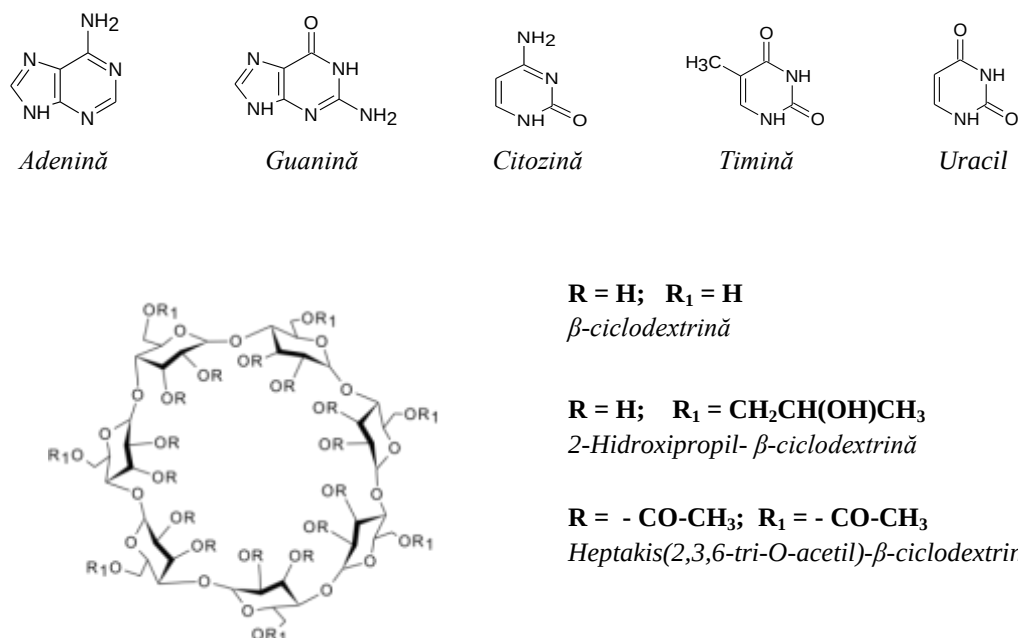


Figura 5.1. Structura moleculară a nucleobazelor și a receptorilor ciclodextrinici utilizați în studiu

V.3.1. Modul de lucru

Titrare

Afinitatea receptorilor ciclodextrinici pentru nucleobaze insolubile apoasă a fost investigată folosind spectrometria UV și spectroscopia fluorescență. Receptorul β -CD nu a prezentat bandă de absorbție în UV-Vis sau de emisie fluorescentă.

S-au preparat soluții stoc în apă bidistilată pentru nucleobazele studiate cu următoarele concentrații: $C_{\text{adenină}} = 1,0 \times 10^{-4}$ M, $C_{\text{guanină}} = 5,0 \times 10^{-4}$ M (pH = 3,0), $C_{\text{citozină}} = 1,0 \times 10^{-4}$ M. Folosind soluția stoc s-a preparat pentru fiecare nucleobază câte o soluție de concentrație $1,0 \times 10^{-5}$ M într-un balon cotat de 10 mL. Soluția stoc de β -ciclodextrină de concentrație $1,0 \times 10^{-2}$ M s-a preparat utilizând 5 mL de soluție apoasă de nucleobază $1,0 \times 10^{-5}$ M.

V.4. Rezultate și discuții

V.4.1. Aspecte privind complexarea guaninei cu β -ciclodextrina

V.4.1.1. Studiul complexelor β -CD – guanină utilizând spectrometria UV-Vis

La adăugarea receptorului ciclodextrinic se constată o creștere graduală în absorbanta guaninei. Maximumul de absorbție s-a păstrat la 248 nm. Modificările induse în absorbanta compusului oaspete sunt deseori atribuite formării complexului de incluziune [250,259,260], deoarece acestea indică că molecula oaspete trece din volumul soluției apoase spre cavitatea hidrofobă a β -CD și în consecință, molecula oaspete prezintă caracteristici spectrale diferite [250, 259].

Corelația absorbanțelor conform ecuației Benesi Hildebrand (ecuația 5.20) evidențiază posibilitatea formării complexelor β -CD-guanină cu o stoichiometrie de 1:1 ($R^2 = 0.9913$; F-stat = 1030).

$$\frac{1}{\Delta A} = \frac{1}{(A_{11} - A_0) K_{11} [\beta - CD]} + \frac{1}{(A_{11} - A_0)} \quad (5.20)$$

$$A = \frac{A_0 + A_{11} K_{11} [\beta - CD]}{1 + K_{11} [\beta - CD]} \quad (5.21)$$

Unde A – reprezintă absorbanta maximă a guaninei în prezența receptorului ($\lambda=248$ nm)

A_0 – absorbanta maximă a guaninei în absența receptorului ($\lambda=248$ nm)

A_{11} – absorbanta complexului β -CD-guanină

K_{11} – constanta de asociere a complexului gazdă-oaspete de tip 1:1

Corelația dintre absorbanta maximă a guaninei și concentrația β -ciclodextrinei din probe este redată în figura 5.5. Fitarea datelor experimentale utilizând ecuația 5.21 sugerează formarea complexelor guanină- β -CD cu o stoichiometrie de 1:1, cu o constantă de asociere $K_{11} = 98 \pm 11 \text{ M}^{-1}$ ($R^2 = 0,9929$, F-stat = 1819, $A_{11}/A_0 = 1,92 \pm 0,07$) (Figura 5.5).

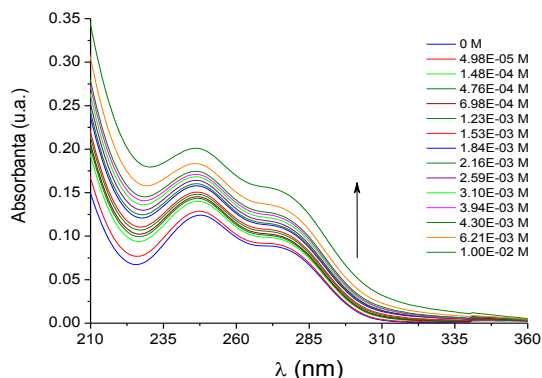


Figura 5.3. Spectrele de absorbție ale guaninei ($1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$) în absența și în prezența unor concentrații crescătoare de β -CD ($5,0 \times 10^{-5}$ – $1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$), pH 3,0

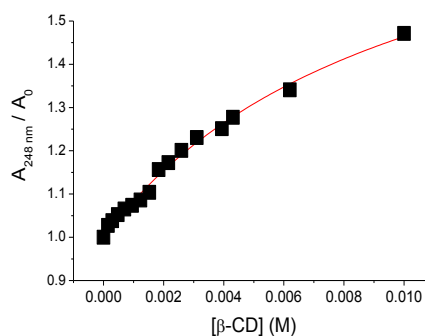


Figura 5.5. Fitarea rezultatelor experimentale obținute prin spectrometria de absorbție pentru β -CD – guanină cu ecuația 5.21

V.4.1.2. Studiul complexelor β -CD–guanină utilizând spectrometria de fluorescență

Complexarea guaninei de către β -ciclodextrină s-a investigat utilizând și spectrometria de fluorescență. Astfel s-au înregistrat spectrele de emisie ale guaninei (menținută la concentrație constantă de $1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$) în absența și în prezența unor concentrații crescătoare de compus gazdă ($4,98 \times 10^{-5} \text{ M}$ – $1,00 \times 10^{-2} \text{ M}$). Spectrele de fluorescență au fost înregistrate în intervalul 290 – 550 nm la o lungime de undă de excitație fixată la 280 nm.

Ca și în cazul spectrelor UV-Vis, la adăugarea receptorului se constată o creștere graduală a intensității de emisie (Figura 5.6) a guaninei, cu păstrarea lungimei de undă a maximului de intensitate la $\lambda_{\text{em}} = 350 \text{ nm}$. Creșterea intensității de emisie poate fi explicată prin formarea unui complex între guanină și β -CD.

Estimarea constantei de asociere și a stoichiometriei complexelor β -CD – guanină s-a realizat prin fitarea datelor experimentale obținute prin spectroscopia de fluorescență ($\lambda_{\text{em}} = 350 \text{ nm}$) utilizând următoarele ecuații:

$$\frac{1}{\Delta I} = \frac{1}{(I_{11} - I_0) K_{11} [\beta - CD]} + \frac{1}{(I_{11} - I_0)} \quad (5.22)$$

$$I = \frac{I_0 + I_{11} K_{11} [\beta - CD]}{1 + K_{11} [\beta - CD]} \quad (5.23)$$

Unde I – reprezintă intensitatea de emisie fluorescentă a guaninei din soluție

I_0, I_{11} - reprezintă intensitatea de emisie fluorescentă a moleculei oaspete în stare liberă și în stare complexată

K_{11} – constanta de asociere a complexului

Fitarea liniară de tipul $1/(I-I_0)$ vs. $1/[\beta-CD]$ (metoda Benesi-Hildebrand) indică o stoichiometrie de 1:1 pentru complexul β -CD – guanină ($R^2 = 0,9927$). Creșterii intensității de emisie a guaninei în funcție de concentrația receptorului este dată în Figura 5.9. Constanta de asociere s-a estimat la $111 \pm 9 \text{ M}^{-1}$ prin fitare datelor experimentale cu ecuația 5.23 ($R^2 = 0,9947$, F-stat = 3309). Stoichiometria de 1:1 a complexului a fost de asemenea studiată prin metoda Job (metoda variației continue) utilizând spectroscopia de fluorescență.

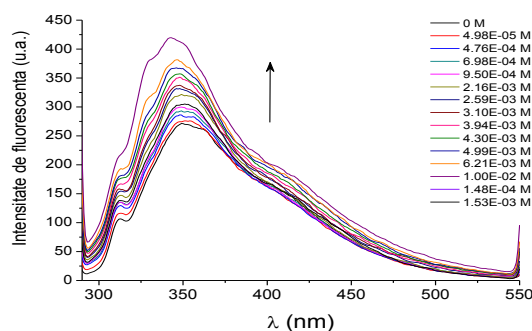


Figura 5.6. Spectrele de fluorescență ale guaninei ($1,00 \times 10^{-5} \text{ M}$) în absența și în prezența unor concentrații crescătoare de β -CD
 $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 350 \text{ nm}$

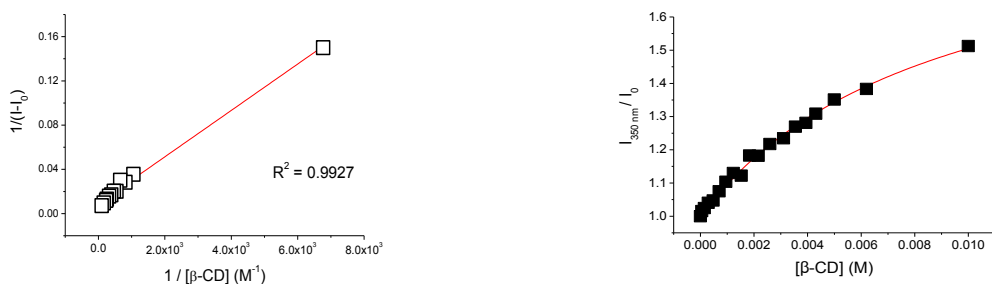


Figura 5.8. Reprezentare grafică $1/(I-I_0)$ vs. $1/[\beta-CD]$ (fitare cu ecuația 5.22)

Figura 5.9. Fitarea rezultatelor experimentale obținute prin spectrometria de fluorescență pentru β -CD – guanină folosind ecuația 5.23

Considerând rezultatele obținute prin spectrometria UV-Vis și de fluorescență, formarea complexelor β -CD-guanină s-ar putea realiza conform echilibrului:



Din tabelul 5.1 se poate observa că valorile constantei de asociere pentru complexul β -CD-guanină obținute prin spectrometria de absorbție și spectroscopia de fluorescență sunt apropiate.

Tabel 5.1 . Parametrii fitării pentru complexul β -CD- guanină

	K_{11}	R^2	$F\text{-stat}$	A_{11}/A_0	I_{11} / I_0
<i>Spectrometria de absorbție în UV-Vis</i>	$98 \pm 11 \text{ M}^{-1}$	0,9929	1819	$1,95 \pm 0.05$	-
<i>Spectrometria de fluorescență</i>	$111 \pm 9 \text{ M}^{-1}$	0,9947	3309	-	$1,92 \pm 0.07$

Unde K_{11} - constanta de asociere ; R^2 -coeficient de corelație; $F\text{-stat}$ -coeficientul Fischer;

I_{11}/I_0 – raportul între intensitatea de emisie a compusului oaspete în stare complexată și în stare liberă;

A_{11}/A_0 - raportul între absorbanta compusului oaspete în stare complexată și în stare liberă

V.4.2. Aspecte privind complexarea adeninei cu β -ciclodextrina

S-au înregistrat spectrele de absorbție în UV-Vis și de emisie fluorescentă ale adeninei în soluție apoasă în absența și în prezența receptorului ciclodextrinic. Concentrația adeninei din probe s-a păstrat constantă la $1,0 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Ca și în cazul guaninei, s-a obținut o creștere a absorbției UV și a intensității de emisie fluorescentă a adeninei la adăugarea β -CD. Maximumul de absorbție de la 260 nm și de emisie fluorescentă de la 410 nm nu a suferit deplasări la creșterea concentrației de receptor.

Pentru a determina constanta de asociere a complexului β -CD-adenină, s-a analizat atât creșterea absorbției cât și a intensității de fluorescență în funcție de concentrația β -CD folosind ecuații neliniare. Cea mai bună fitare a intensității de emisie ($\lambda_{em} = 410 \text{ nm}$) indică formarea complexului β -CD-adenină de tipul 1:1 cu o constantă de asociere corespunzătoare de $77 \pm 13 \text{ M}^{-1}$ ($R^2 = 0,9927$, $F\text{-stat} = 1792$). Aceste rezultate sunt consistente cu cele obținute prin analiza datelor obținute prin spectrometria de absorbție care indică de asemenea o stoichiometrie de 1:1 pentru complexul β -CD-adenină, cu o constantă de asociere de $122 \pm 25 \text{ M}^{-1}$ ($R^2 = 0,9918$; $F\text{-stat} = 1343$).

Analiza datelor experimentale utilizând metoda Benesi-Hildebrand confirmă posibilitatea formării unui complex cu o stoichiometrie de 1:1 între adenină și β -CD, rezultate consistente cu cele raportate în literatura de specialitate [304].

V.4.3. Aspecte privind complexarea citozinei cu β -ciclodextrina și 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina

Experimentele au continuat cu studiul complexării citozinei cu β -ciclodextrina și 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina prin spectrometria de absorbție în UV-Vis și spectroscopia de fluorescență.

V.4.3.1. Studiul complexării citozinei cu β -ciclodextrina

Creșterea absorbanței în UV-Vis, respectiv a intensității de fluorescență a citozinei la adăugarea graduală a β -ciclodextrinei evidențiază interacția dintre compusul gazdă și compusul oaspete. Maximumul de absorbție de la 266 nm și de emisie fluorescentă de la 350 nm nu a suferit deplasări la creșterea concentrației de receptor. Spectrele de absorbție în UV-Vis și de emisie fluorescentă ale citozinei obținute în timpul titrării sunt date în figura 5.19, respectiv figura 5.22.

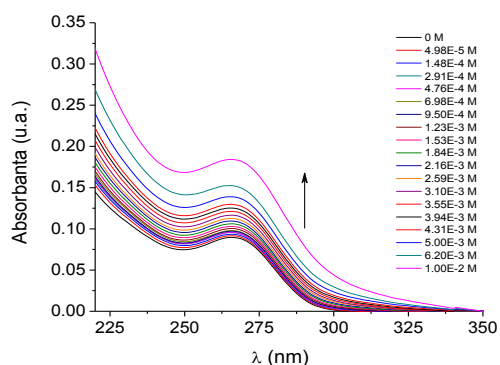


Figura 5.19. Spectrele de absorbție ale citozinei ($1.00 \times 10^{-5} \text{ M}$) în absența și în prezența unor concentrații crescătoare de β -CD

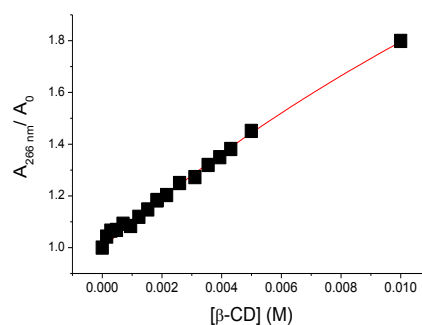


Figura 5.21. Fitarea datelor experimentale obținute prin spectrometria UV-Vis pentru β -CD-citozină conform unei ecuații specifice 1:1 ($R^2 = 0,9950$, F-stat = 3833)

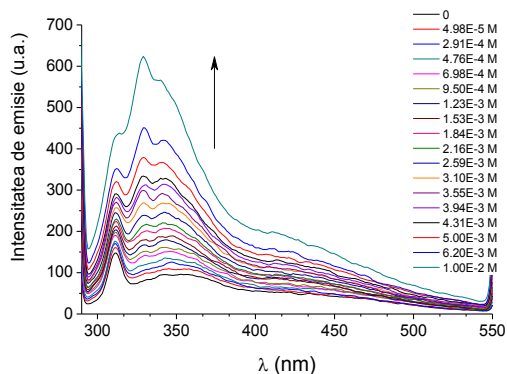


Figura 5.22. Spectrele de emisie ale citozinei în absența și în prezența unor concentrații crescătoare de β -CD
 $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 350 \text{ nm}$

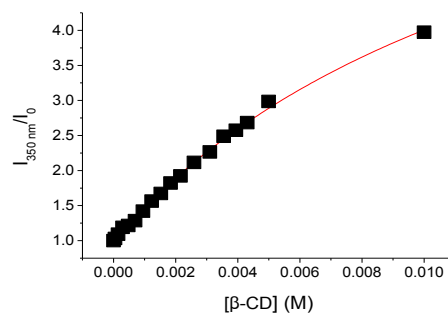
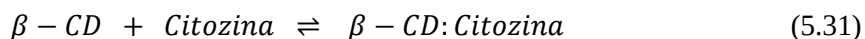


Figura 5.25. Fitarea neliniară a datelor experimentale obținute prin spectrometria de fluorescență pentru β -CD - citozină conform unei ecuații specifice 1:1 ($R^2 = 0,9980$; F-stat = 8366)

Datele experimentale obținute pentru concentrații diferite de β -CD au fost fitate utilizând atât ecuații liniare cât și neliniare pentru a determina constanta de asociere pentru complexul β -CD-citozină. De asemenea, s-a evidențiat o stoichiometrie de 1:1 pentru complexul format. Constanta de asociere estimată la $72 \pm 4 \text{ M}^{-1}$ din valorile obținute în titrare prin spectroscopia de fluorescență este mai mare decât cea obținută prin analiza datelor experimentale prin spectrometria de absorbție UV-Vis.



V.4.3.2. Studiul complexării citozinei cu 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina

Experimentele au continuat cu studiul complexului format între citozină și 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina în soluție apoasă pentru a investiga influența grupărilor funcționale atașate inelului ciclodextrinic. În determinările prin spectrometria UV-Vis și de fluorescență s-a menținut constantă concentrația citozinei ($1,00 \times 10^{-5} \text{ M}$) și cantități diferite de receptor în domeniul $3,88 \times 10^{-4} \text{ M} - 7,80 \times 10^{-2} \text{ M}$. Pentru a determina stoichiometria și constanta de asociere a complexului format s-a realizat fitarea datelor experimentale utilizând ecuații uzuale pentru diferite tipuri de complecși supramoleculari [209].

V.4.4. Aspecte privind complexarea timinei și uracilului cu β -ciclodextrina

Complexarea timinei și a uracilului cu β -ciclodextrinei s-a investigat prin spectrometria de absorbție în UV-Vis.

Capitolul VI. Hemicucurbit[n]urilul, n = 6, 12 în procese de separare ale aminoacizilor

VI.1. Hemicucurbit[n]urilul, n = 6,12 ca agent de extracție al unor aminoacizi

VI.1.1. Considerații generale

În acest capitol s-au studiat posibilitățile de utilizare ale hemicucurbit[n]uril ($n = 6, 12$) și ale β -ciclodextrinei funcționalizate ca extractant în extracția lichid-lichid sau transportor prin membrana lichidă de volum, în scopul separării unor aminoacizi nativi și derivați.

VI.1.3. Condiții experimentale

VI.1.3.1. Reactivi și aparatura utilizată

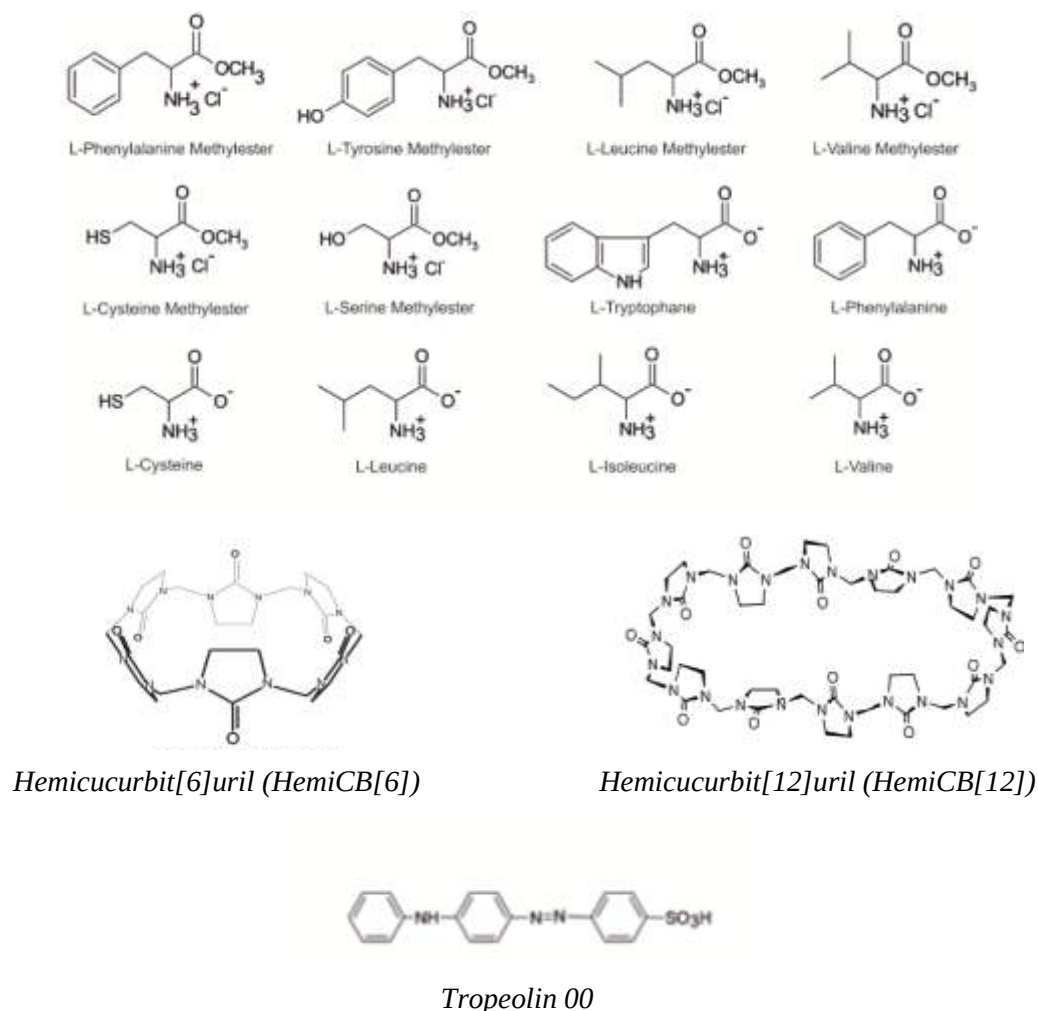


Figura 6.1. Structura moleculară a compuşilor utilizați în studiu

VI.1.3.2. Modul de lucru

S-au preparat soluțiile stoc de aminoacizi în apă bidistilată. Concentrațiile soluțiilor stoc de aminoacizi au variat între $1,0 \times 10^{-3} \text{ M}$ – $2,0 \times 10^{-3} \text{ M}$. S-a preparat soluția stoc de Tropeolin 00 de concentrație $5,0 \times 10^{-4} \text{ M}$. Soluțiile de hemicucurbit[6]uril (HemiCB[6]), respectiv hemicucurbit[12]uril (HemiCB[12]), s-au preparat în cloroform saturat cu apă, de concentrație $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$.

Extracția aminoacizilor din faza apoasă în faza organică (cloroform) s-a realizat în pâlnii de separare astfel:

- 5 mL de soluție apoasă de aminoacid de concentrație $5,0 \times 10^{-4} \text{ M}$, pH 5,5, s-a agitat cu 5 mL soluție organică (cloroform) de HemiCB[6], respectiv HemiCB[12], de concentrație $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$ ($T = 298,15 \text{ K}$);
- S-au înregistrat spectrele UV-Vis ale soluțiilor apoase de aminoacid initiale, respectiv după extracție și s-a citit absorbanta maximă ($\lambda = 444 \text{ nm}$).

Extracția procentuală s-a calculat folosind relația Pedersen [307] :

$$E \% = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad (6.17)$$

Unde A_0 , A - reprezintă absorbanta fazei apoase inițiale (înainte de extracție) și după extracția cu receptorul.

VI.1.4. Rezultate și discuții

VI.1.4.1. Extracția lichid-lichid a aminoacizilor cu hemicucurbit[n]uril, $n = 6,12$

Abilitatea receptorilor HemiCB[n], $n=6,12$, de a fi utilizați ca extractanți în extracția lichid-lichid a unor aminoacizi nativi (*L-fenilalanină*, *L-leucină*, *L-isoleucină*, *L-cisteină*, *L-valină*, *L-triptofan*) și derivatizați (*L-fenilalanină metilester* (*L-PheOMe*), *L-leucina metilester* (*L-LeuOMe*), *L-serina metilester* (*L-SerOMe*), *L-cisteina metilester* (*L-CysOMe*), *L-valina metilester* (*L-ValOMe*) și *L-tirozina metilester*) s-a studiat la pH 5,5, în prezența anionului provenit de la tropeolin 00.

Receptorii HemiCB[6] și HemiCB[12] nu prezintă bandă de absorbție în domeniul de interes și sunt utilizați în premieră în procese de separare ale unor compuși biologici.

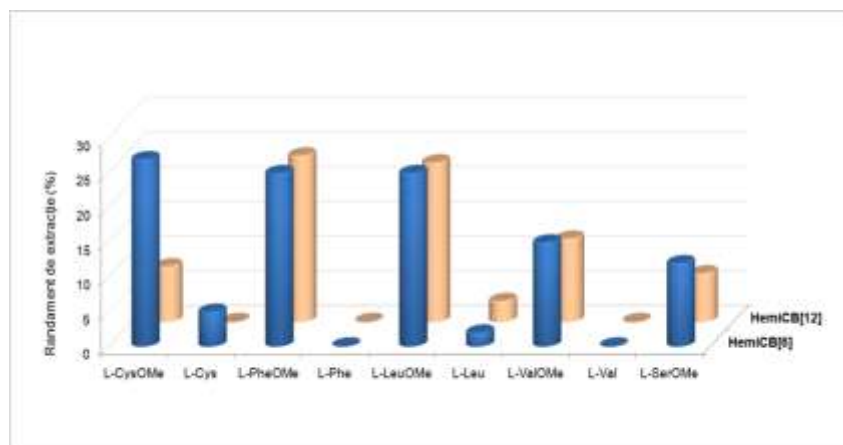


Figura 6.12. Randamentele de extracție ale aminoacizilor studiați cu HemiCB[6] și HemiCB[12]

În figura 6.21 sunt prezentate valorile randamentelor de extracție din faza apoasă în cloroform ale aminoacizilor studiați utilizând ca extractanți receptorii HemiCB[6] și HemiCB[12] în prezența anionului pereche provenit de la tropaeolin 00. Randamentele de extracție sunt influențate de parametri precum structura aminoacizilor, proprietățile structurale ale receptorului, natura anionului pereche, pH-ul fazei apoase și natura solventului. Rezultatele obținute evidențiază afinitatea receptorului HemiCB[6], respectiv HemiCB[12], pentru aminoacizii cu o hidrofobicitate ridicată (L-PheOMe, L-LeuOMe și L-ValOMe) [305].

VI.1.5. Concluzii

Rezultatele experimentale obținute în cazul extracției lichid-lichid a aminoacizilor studiați folosind ca extractanți receptorii HemiCB[n], $n = 6, 12$ evidențiază afinitatea acestora pentru L-aminoacizii derivatizați. Randamente de extracție au variat între 27% (L-CysOMe) și 3% (L-Leu) și pentru HemiCB[6], respectiv 24% (L-PheOMe) și 3% (L-Leu), pentru HemiCB[12]. Randamentele de extracție ale aminoacizilor nativi sunt cuprinse între 0% și 5%.

Rezultatele obținute în studiul influenței timpului de agitare al fazelor nemiscibile asupra randamentelor de extracție indică o bună afinitate a receptorului HemiCB[6] pentru aminoacizii metilester L-CysOMe (42%) și L-PheOMe (33%).

VI.2. Aspecte privind transportul prin membrane lichide de volum al unor aminoacizi utilizând hemicucurbit[6]uril

Considerând rezultatele experimentale obținute la extracția lichid-lichid care au evidențiat afinitatea receptorului HemiCB[6] pentru aminoacizii metilester, în continuare

s-a studiat abilitatea acestuia de a fi utilizat ca transportor prin membrane lichide de volum pentru o serie de aminoacizi derivatizați.

VI.2.1. Condiții experimentale

VI.2.1.1. Reactivi și aparatura utilizată

Transportul aminoacizilor s-a realizat utilizând un dispozitiv în formă de U redat în figura 6.14.

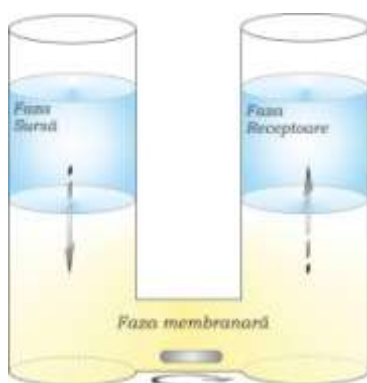


Figura 6.14. Dispozitivul utilizat în procesele de transport

Absorbanțele au fost citite folosind spectrofotometrul UV-Vis Jasco V-530. pH-ul soluțiilor s-a măsurat utilizând un pH-metru Pracitronic MV-870 cu electrod de sticlă și electrod de calomel.

VI.2.1.2. Modul de lucru

Transportul aminoacizilor derivatizați prin membrană lichidă de cloroform, sub formă de pereche de ioni, în prezența anionului provenit de Tropeolin 00, s-a realizat prin agitarea celor trei faze (sursă, organică și receptoare), la temperatura camerei, timp de 24 h.

S-au preparat fazele membranare astfel:

- *Faza sursă* – 5 ml de soluție apoasă de aminoacid de concentrație $5,0 \times 10^{-4}$ M, pH 5,5, $C_{\text{Tropeolin 00}} = 8,0 \times 10^{-5}$ M.
- *Faza organică (membrana)* – 10 ml de HemiCB[6] de concentrație $1,0 \times 10^{-4}$ M în cloroform
- *Faza receptoare* - 5 ml de soluție apoasă pH = 1,5 (ajustare cu HCl 0,1N).

Concentrația aminoacidului în cele două faze apoase (sursă și receptoare) s-a determinat spectrofotometric. S-au realizat și experimente martor, fără aminoacid în faza sursă.

Randamentul de transport s-a determinat folosind relația:

$$\eta \% = \frac{A_r}{A_0} \times 100 \quad (6.19)$$

unde: A_r - absorbanța fazei apoase receptoare (după transport);

A_0 - absorbanța fazei apoase sursă inițială (înainte de transport).

Fluxul (J) s-a calculat folosind următoarea relație:

$$J = \frac{\Delta C_r V}{t A} \quad (6.20)$$

unde: J – fluxul ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

ΔC_r - diferența de concentrație a aminoacidului în faza receptoare (M)

V – volumul fazei receptoare (dm^3)

t – timpul (s)

A – aria membranei (m^2)

VI.2.2. Rezultate și discuții

VI.2.2.1. Hemicucurbit[6]uril în transportul prin membrane lichide de volum

Transportul aminoacizilor metilester cu HemiCB[6] s-a realizat după un model de transport activ, sub acțiunea unui gradient de pH și în prezența unui anion pereche provenit de la Tropeolin 00. Randamentele de transport ale aminoacizilor studiați s-au calculat utilizând ecuația 6.19 și sunt redată în figura 6.15.

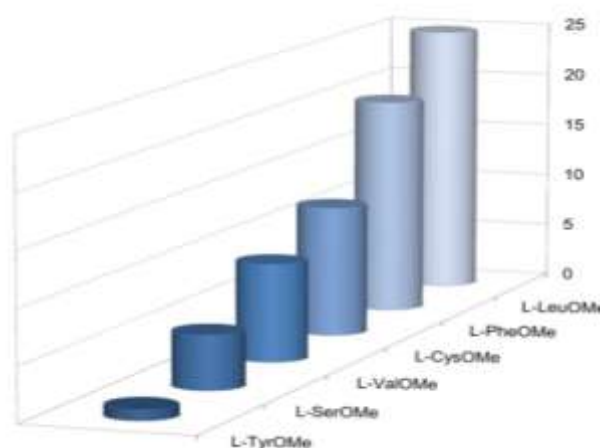


Figura 6.15. Randamentele de transport prin membrane lichide ale unor aminoacizi metilester utilizând HemiCB[6] ca transportor

Faza sursă (5 ml): $pH = 5,5$; $C_{\text{tropeolin 00}} = 8,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $C_{\text{aminoacid}} = 5,0 \times 10^{-4} \text{ M}$

Faza membranară (10 ml): $C_{\text{HemiCB[6]}} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$

Faza receptoare (5 ml): $pH = 1,5$

$t = 24\text{h}$

Din figura 6.15 și din tabelul 6.7 se poate observa că receptorul HemiCB[6] prezintă o afinitate de transport bună pentru aminoacizii L-LeuOMe, L-PheOMe și L-CysOMe. Valorile obținute pentru randamentele de transport ale aminoacizilor sunt cuprinse între 1% și 25%, transportul cu HemiCB[6] realizându-se în următoarea ordine:

$L\text{-LeuOMe (25\%)} > L\text{-PheOMe (20\%)} > L\text{-CysOMe (12\%)} > L\text{-ValOMe (9\%)} > L\text{-SerOMe (5\%)} > L\text{-TyrOMe (1\%)}.$

Tabel 6.7. Transportul L-aminoacizilor metilester prin membrana lichidă în prezența anionului pereche utilizând drept transportor HemiCB[6] (t = 24h)

Aminoacid	Concentrație inițială aminoacid în faza sursă	Concentrație aminoacid în faza receptoare după transport	η (%)	$J_{24} \times 10^8$ ($\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
	M	M		
L-LeuOMe	$5,00 \times 10^{-4}$	$1,23 \times 10^{-4}$	25	7,50
L-PheOMe	$5,00 \times 10^{-4}$	$0,98 \times 10^{-4}$	20	5,95
L-CysOMe	$5,00 \times 10^{-4}$	$0,62 \times 10^{-4}$	12	3,76
L-ValOMe	$5,00 \times 10^{-4}$	$0,47 \times 10^{-4}$	9	2,87
L-SerOMe	$5,00 \times 10^{-4}$	$0,27 \times 10^{-4}$	5	1,66
L-TyrOMe	$5,00 \times 10^{-4}$	$0,03 \times 10^{-4}$	1	0,18

VI.2.2.1.1. Aspecte privind corelația dintre extractibilitatea aminoacizilor derivatizați și transportul acestora cu HemiCB[6]

În figura 6.16 sunt prezentate într-o manieră comparativă randamentele de extracție (t = 30 min) și de transport (t = 24 h) obținute pentru aminoacizii metilesteri utilizând receptorul HemiCB[6] ca agent de extracție și de transport.

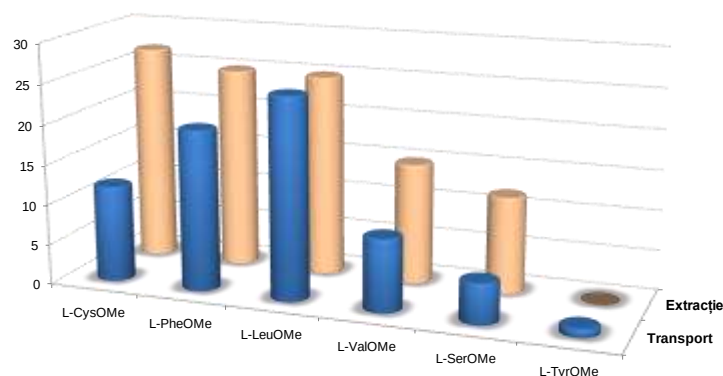


Figura 6.16. Randamentele de extracție și transport ale aminoacizilor metilester studiați cu HemiCB[6]

În cazul aminoacizilor L-PheOMe and L-LeuOMe valorile obținute pentru randamentele de extracție și de transport de către HemiCB[6] sunt apropiate. O diferență semnificativă s-a constatat în extractibilitatea și transportul aminoacidului L-CysOMe.

VI.2.2.1.2. Etapele procesului de transport prin membrane lichide de volum

VI.2.2.1.3. Mecanismul de transport prin membrana lichidă de volum având ca transportor HemiCB[6]

Mecanismul de transport propus pentru procesele de separare studiate este redat în figura 6.17.

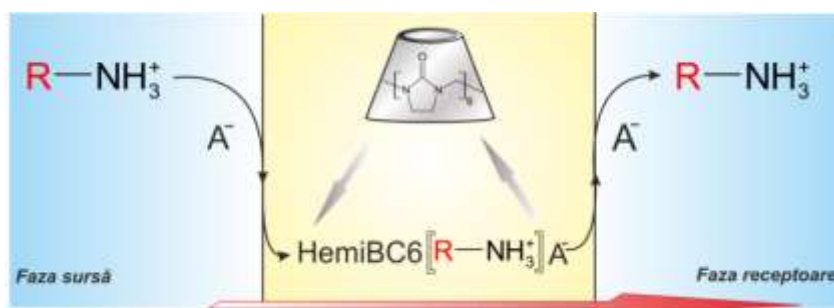


Figura 6.17. Prezentarea schematică a mecanismului de transport prin membrana lichidă al aminoacizilor cu receptorul HemiCB[6] ca transportor

Faza sursă (5 ml): pH = 5,5; $C_{\text{tropeolin 00}} = 8,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $C_{\text{aminoacid}} = 5,0 \times 10^{-4} \text{ M}$

Faza membranară (10 ml): $C_{\text{HemiCB[6]}} = 1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$

Faza receptoare (5 ml): pH=1,5

Se realizează un transport activ al aminoacizilor sub formă de pereche de ioni din faza sursă în faza receptoare sub acțiunea unui gradient de pH. Receptorul HemiCB[6] complexează aminoacidul în asociere cu anionul la interfața dintre faza sursă și faza organică (cloroform). Complexul supramolecular format este lipofil și traversează prin difuzie membrana, iar la interfața cu faza receptoare sunt asigurate condițiile optime pentru eliberarea aminoacidului. Întoarcerea transportorului HemiCB[6] la interfața cu faza sursă după decomplexare se bazează tot pe un proces de difuzie.

VI.2.3. Concluzii

Abilitatea receptorului HemiCB[6] de a activa ca transportor s-a evidențiat prin rezultatele obținute în urma transportului L-aminoacizilor metilesteri prin membrana lichidă de volum. Se remarcă afinitatea receptorului HemiCB[6] către aminoacidul L-LeuOMe (25%) urmat de L-PheOMe (20%) și L-CysOMe (12%).

S-a realizat un transport activ al aminoacizilor sub formă de pereche de ioni prin membrana lichidă de volum, sub acțiunea gradientului de pH și în prezența unui anion pereche provenit de la Tropeolin 00. Din studiul transportului prin membrană a aminoacizilor la 24 h și respectiv 48 h s-a observat o creștere a randamentelor de transport (L-LeuOMe 28%; L-PheOMe 28%; L-CysOMe 18%, L-ValOMe 15%) și a fluxului de transport al aminoacizilor o dată cu creșterea timpului de agitare.

Capitolul VII. Separarea unor nucleobaze prin extracție lichid-lichid și transport prin membrane lichide de volum

În acest capitol s-a studiat posibilitatea separării unor nucleobaze (adenină, citozină, timină și uracil) folosind receptori sintetici cu structură diferită ca agenți de extracție și de transport prin membrane lichide de volum.

CONCLUZII GENERALE

Obiectivul principal al tezei de doctorat intitulată „*Studii de incluziune și separare a unor compuși biochimici utilizând receptori macrociclici*”, a constat în introducerea de noi receptori macrociclici pentru recunoașterea moleculară a unor compuși de interes biologic în scopul separării acestora. Astfel în această lucrare s-au studiat aspecte privind recunoașterea moleculară a nucleobazelor (adenina, citozină, guanină, timină și uracil) și a unor aminoacizi în formă nativă și metilesteri de către următorii receptori macrociclici: hemicucurbit[6]uril, hemicucurbit[12]uril, cucurbit[7]uril, β -ciclodextrina și 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, precum și posibilitățile de separare ale acestora prin extracție lichid-lichid și membrane lichide de volum.

Rezultatele experimentale obținute în cadrul cercetărilor întreprinse conduc la formularea următoarelor concluzii:

- ✓ S-a evidențiat posibilitatea complexării adeninei și citozinei cu hemicucurbit[6]uril (HemiCB[6]), receptor utilizat pentru prima dată în studii de complexare ale unor compuși de interes biologic.
- ✓ Datele experimentale obținute prin spectrometria UV-Vis și de fluorescență privind complexarea nucleobazelor cu β -ciclodextrina au indicat formarea unor complecși de tipul 1:1, în domeniul de concentrație utilizat. S-au prezentat comparativ valorile

constantei de asociere a complecșilor studiați obținute prin ambele tehnici spectrometrice.

- ✓ S-a evidențiat posibilitatea formării complexului β -CD–timină cu o stoichiometrie 1:1 prin spectrometria UV-Vis.
- ✓ Studiul complexării citozinei cu 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina a evidențiat rolul grupărilor funcționale regăsite în structura receptorului asupra procesului de complexare.
- ✓ Receptorii hemicucurbit[6]uril și hemicucurbit[12]uril au fost utilizați pentru prima dată în procese de separare a unor aminoacizi nativi (*L-Phe*, *L-Leu*, *L-Ile*, *L-Val*, *L-Cys*, *L-Trp*) și metilesteri (*L-PheOMe*, *L-LeuOMe*, *L-SerOMe*, *L-CysOMe*, *L-ValOMe*, *L-TyrOMe*). Rezultatele experimentale obținute în cazul extracției lichid-lichid a aminoacizilor studiați, folosind ca extractanți receptorii HemiCB[6] și HemiCB[12], evidențiază afinitatea acestora pentru aminoacizii derivatizați.
- ✓ Abilitatea receptorului HemiCB[6] de a activa ca transportor prin membrane lichide de volum s-a evidențiat prin rezultatele obținute în experimentele de transport ale unor aminoacizi metilesteri prin membrana lichidă. S-a realizat un transport activ al aminoacizilor sub formă de pereche de ioni prin membrana lichidă de volum, sub acțiunea gradientului de pH și în prezența unui anion pereche provenit de Tropeolin 00.
- ✓ Din studiul transportului prin membrana lichidă al aminoacizilor la 24 h și respectiv 48 h s-a observat o creștere a randamentelor de transport și a fluxului de transport al aminoacizilor o dată cu creșterea timpului de agitare.
- ✓ Rezultatele obținute în studiile de transport ale adeninei prin membrana lichidă de volum folosind D_2 EHPA (acidul di-(2-etilhexil)fosforic) ca transportor evidențiază influența concentrației transportorului din membrană, precum și a concentrației adeninei din faza sursă asupra randamentului de transport prin membrana lichidă. Transportul prin membrană este activ și se realizează sub acțiunea unui gradient de pH între faza sursă și faza apoasă.
- ✓ În concluzie receptorii studiați: hemicucurbit[6]uril, hemicucurbit[12]uril, β -ciclodextrina, 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, calix[4]arena, p-terț-butil-calix[4]arena, p-terț-butil-calix[6]arena, 5,11,17,23-tetrakis(N-metilpiperazin) 25,26,27,28- tetrahidroxicalix[4]arena, calix[6]arena și acidul di-2-etilhexil fosforic pot fi utilizați în aplicații analitice, și anume în procese de separare ale unor compuși de interes biologic.

Referințe bibliografice selective

1. J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry. Concepts and Perspectives*, VCH, Weinheim, 1995.
2. J.-M. Lehn, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013, 52, 2836 – 2850.
3. E.V. Anslyn, *J. Org. Chem.* 2007, 72, 687-699.
4. L. You, D. Zha, E.V. Anslyn, *Chem. Rev.* 2015, 115, 7840–7892.
5. H.-J. Schneider, *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 6694–6717.
6. X. Ma, Y. Zhao, *Chem. Rev.* 2015, 115, 7794–7839.
7. L. Mutihac, J. H. Lee, J. S. Kim, J. Vicens, *Chem. Soc. Rev.* 2011, 40, 2777-2796.
8. O. Danylyuk, K. Suwinska, *Chem. Commun.* 2009, 5799-5813.
9. L.A. Logsdon, C.L. Schardon, V. Ramalingam, S. K. Kwee, A.R. Urbach, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 17087–17092
10. A.R. Urbach, V. Ramalingam, *Isr. J. Chem.* 2011, 51, 664–678.
11. L.A. Logsdon, C.L. Schardon, V. Ramalingam, S.K. Kwee, A.R. Urbach, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 17087
12. M.V. Rekharsky, H. Yamamura, Y.H. Ko, N. Selvapalam, K. Kim, Y. Inoue, *Chem. Commun.* 2008, 2236-2238.
13. Y. Tauran, B. Kim, A.W. Coleman, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* 2015, 15, 1–19.
14. G. Ghale, W. M. Nau, *Acc. Chem. Res.* 2014, 47, 2150-2159.
15. K.I. Assaf, M.S. Ural, F. Pan, T. Georgiev, S. Simova, K. Rissanen, D. Gabel, W.M. Nau, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 6852 –6856.
16. M. Sayed, M. Sundararajan, J. Mohanty, A.C. Bhasikuttan, H. Pal, *J. Phys. Chem. B* 2015, 119, 3046–3057.
17. J. Lagona, P. Mukhopadhyay, S. Chakrabarti, L. Isaacs, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2005, 44, 4844-4870.
18. E. Masson, X. Ling, R. Joseph, L. Kyeremeh-Mensah, X. Lu, *RSC Adv.* 2012, 2, 1213–1247.
19. L. Isaacs, *Acc. Chem. Res.* 2014, 47, 2052-2062.
20. K.I. Assaf, W.M. Nau, *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44, 394-418.

21. F. Biedermann, V. D. Uzunova, O. A. Scherman, W. M. Nau, A. De Simone, *J. Am. Chem. Soc.* 2012, 134, 15318-15323.
22. S. J. C. Lee, J. W. Lee, H. H. Lee, J. Seo, D. H. Noh, Y. H. Ko, K. Kim, H. I. Kim, *J. Phys. Chem. B*, 2013, 117, 8855-8864.
23. L. Gilberg, M. S. A. Khan, M. Enderesova, V. Sindelar, *Org. Lett.* 2014, 16, 2446.
24. T. Minami, N. A. Esipenko, A. Akdeniz, B. Zhang, L. Isaacs, P. Anzenbacher, Jr. *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 15238–15243.
25. Y. Miyahara, K. Goto, M. Oka, T. Inazu, *Angew. Chem. Int.* 2004, 43, 5019-5022.
26. M. Sundararajan, R.V. Solomon, S.K. Ghosh, P. VenUV-Visanalingam, *RSC Advances*, 2011, 1, 1333-1341.
27. J. Svec, M. Necas, V. Sindelar, *Angew. Chem., Int. Ed.* 2010, 49, 2378-2381.
28. W. L. Mock, T. A. Irra, J. P. Wepsiec, T. L. Manimaran, *J. Org. Chem.* 1983, 48, 3619-3620.
29. M. Šekutor, K. Molčanov, L. P. Cao, L. Isaacs, R. Glaser, K. Mlinaric-Majerski, *Eur. J. Org. Chem.* 2014, 12, 2533-2542.
30. L. P. Cao, M. Šekutor, P. Y. Zavalij, K. Mlinaric-Majerski, R. Glaser, L. Isaacs, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2014, 53, 988-993.
31. J. M. Chinai, A. B. Taylor, L. M. Ryno, N.D. Hargreaves, C. A. Morris, P. John Hart, A. R. Urbach, *J Am Chem Soc.* 2011, 133, 8810-8813.
32. X. Feng, X.-J. Lu, S.-F. Xue, Y.-Q. Zhang, Z. Tao, Q.-J. Zhu, *Inorg. Chem. Commun.*, 2009, 12, 849-852.
33. E. A. Mainicheva, A. A. Tripolskaya, O. A. Gerasko, D. Y. Naumov, V. P. Fedin, *Russ. Chem. Bull.* 2006, 55, 1566-1573.
34. M. N. Sokolov, E. V. Chubarova, K. A. Kovalenko, I. V. Mironov, A. V. Virovets, E. V. Peresypkina, V. P. Fedin, *Russ. Chem. Bull.* 2005, 54, 615-622.
35. G. Celtek, M. Artar, O. A. Scherman, D. Tuncel, *Chem. – Eur. J.* 2009, 15, 10360-10363.
36. H. Cong, T. Yamato, Z. Tao, *J. Mol. Catal. A: Chem.* 2013, 379, 287-293.
37. R. B. Wang, L. N. Yuan, D. H. Macartney, *J. Org. Chem.* 2006, 71, 1237-1239.
38. C. Li, J. Feng, H. Ju, *Analyst* 2015, 140, 230-235.
39. L. Cao, G. Hettiarachchi, V. Briken, L. Isaacs, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2013, 52, 12033–12037.

40. H. Huang, Q.-H. Hu, G.-X. Song, Z. Tao, S.-F. Xue, Q.-J. Zhu, Q.-d. Zhou, G. Wei, *RSC Adv.* 2014, 4, 3348-3354.
41. D. Ma, B. Zhang, U. Hoffmann, M.G. Sundrup, M. Eikermann, L. Isaacs, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012, 51, 11358-11362.
42. B. Zhang, P.Y. Zavalij, L. Isaacs, *L. Org. Biomol. Chem.* 2014, 12, 2413-2422.
43. R. N. Dsouza, A. Hennig, W. M. Nau, *Chem. – Eur. J.* 2012, 18, 3444-3459.
44. G. Ghale, V. Ramalingam, A. R. Urbach, W. M. Nau, *J. Am. Chem. Soc.* 2011, 133, 7528-7535.
45. F. Biedermann, D. Hathazi, W.M. Nau, *Chem. Commun.* 2015, 51, 4977-4980.
46. T. Minami, N. A. Esipenko, B. Zhang, L. Isaacs, P. Anzenbacher, *Chem. Commun.* 2014, 50, 61-63.
47. S. J. Barrow, S. Kasera, M.J. Rowland, J. del Barrio, O. A. Scherman, *Chem. Rev.* 2015, 115, 12320–12406.
48. G. Crini, *Chem. Rev.* 2014, 114, 10940–10975.
49. H. Dodziuk, *Cyclodextrins and Their Complexes*, Wiley-VCH, Weinheim, 2006
50. Y.-L. Zhao, Z. Li, S. Kabehie, Y.Y. Botros, J.F. Stoddart, J.I. Zink, *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 13016-13025.
51. S. V. Kurkov, T. Loftsson, *Int. J. Pharm.* 2013, 453, 167– 180.
52. P. Thordarson, *Chem. Soc. Rev.* 2011. 40, 1305-1323.
53. Q. Ma, X. Yuan, Y. Zhao, L. Ren, *RSC Adv.* 2015,5, 47998-48004.
54. K. A. Connors, *Binding Constants: The Measurement of Molecular Complex Stability*, John Wiley & Sons, New York, NY, 1987.
55. K. Hirose, *J. Incl. Phenom. Macrocyclic Chem.* 2001, 39, 193–209.

DISEMINAREA REZULTATELOR

Articole publicate în reviste ISI:

1. *Hemicucurbiturils as receptors in extraction and transport of some amino acids(online)*
E.I. Cucolea, H.-J. Buschmann, L. Mutihac
Supramol. Chem. DOI: 10.1080/10610278.2015.1121267, 2016 (**FI: 2.394**)
2. *Interactions of cucurbit[7]uril and β -Cyclodextrin with some nucleobases*
E.I. Cucolea, C. Tablet, H.-J. Buschmann, L. Mutihac
J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem. 83: 103-110, 2015 (**FI: 1.488**)

Participări la conferințe naționale și internaționale

1. *Binding affinity of cucurbit[7]uril and β -cyclodextrin towards some nucleobases*
E.I. Cucolea, C. Tablet, L. Mutihac
10th International Symposium on Macrocyclic and Supramolecular Chemistry (ISMSC 2015), 28 Iunie 2015 – 02 Iulie 2015, Strasbourg, Franța (Poster)
2. *Binding properties of cucurbit[7]uril and β -cyclodextrin towards adenine and guanine*
E.I. Cucolea, C. Tablet, L. Mutihac
Sesiunea de Comunicări Științifice Studentești, 22 Mai 2015, Facultatea de Chimie, Universitatea din București (Prezentare orală)
3. *Cyclodextrin –based supramolecular complexes*
E. Diacu, **E.I. Cucolea**, L. Mutihac
XXXIII-a Conferință națională de chimie 1-3 Octombrie, 2014 Călimănești-Căciulata, Vâlcea, Romania (Poster)
4. *Fluorescence and UV-Vis studies of the host-guest complexes of nucleobases with cyclodextrins and cucurbituril*
E.I. Cucolea, C. Tablet, L. Mutihac
2nd International Conference on Analytical Chemistry RO - ICAC'2014 - Analytical Chemistry for a Better Life, 17-21 septembrie 2014, Târgoviște, Romania (Poster)
5. *Functionalized calixarene used in bioanalytical applications*
L. Mutihac, **E.I. Cucolea**, J. Vicens
2nd International Conference on Analytical Chemistry RO - ICAC'2014 - Analytical Chemistry for a Better Life, 17-21 septembrie ,Târgoviște, Romania (Invited lecture)