



**ȘCOALA DE STUDII AVANSATE A ACADEMIEI ROMÂNE**  
**ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE CHIMICE**  
**INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARĂ**  
**„PETRU PONI”**  
**Domeniul CHIMIE**

***MONITORIZAREA PROCESELOR DE POLIMERIZARE A***  
***MONOMERILOR CICLICI PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ***  
**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

Conducător de doctorat:

Dr. Ing. Valeria HARABAGIU

Student-doctorand:

BLAJ Diana-Andreea

2024

## CUPRINS

<b>LISTĂ DE ABREVIERI .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCERE .....</b>	<b>4</b>
<b>PARTEA I – STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....</b>	<b>10</b>
<b>1. STUDIU DE LITERATURĂ.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.Reacții de polimerizare prin deschidere de ciclu a esterilor ciclici .....</b>	<b>10</b>
1.1.1. <i>Aspecte generale .....</i>	10
1.1.2. <i>Organocatalizatori utilizați în reacțiile prin deschidere de ciclu cu mecanism anionic ale esterilor ciclici .....</i>	13
1.1.3. <i>Tehnici analitice de investigare a cineticii de reacție .....</i>	15
1.1.4. <i>Investigarea reacțiilor secundare de transesterificare .....</i>	17
<b>1.2. Rolul ciclodextrinelor în reacțiile de polimerizare prin deschidere de ciclu ale esterilor ciclici .....</b>	<b>19</b>
1.2.1. <i>Aspecte generale despre ciclodextrine .....</i>	19
1.2.2. <i>Ciclodextrine esterificate prin deschiderea de ciclu a esterilor ciclici .....</i>	23
<b>1.3. Caracterizarea ciclodextrinelor esterificate prin spectrometrie de masă .....</b>	<b>27</b>
1.3.1. <i>Introducere în spectrometria de masă .....</i>	27
1.3.2. <i>Analiza ciclodextrinelor esterificate prin spectrometrie de masă. Generalități .....</i>	33
1.3.3. <i>Analiza structurală a derivaților de ciclodextrină obținuți prin ROO a esterilor ciclici prin spectrometrie de masă MS .....</i>	36
1.3.4. <i>Analiza ciclodextrinelor esterificate prin spectrometrie de masă în tandem .....</i>	41
<b>1.4. Electrofilarea ciclodextrinelor și derivaților de ciclodextrine .....</b>	<b>47</b>
<b>1.5. Concluzii.....</b>	<b>53</b>
<b>PARTEA A II-A – CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>	<b>56</b>
<b>2. MONITORIZAREA SINTEZEI DERIVAȚILOR DE CICLODEXTRINĂ-OLIGOLACTIDĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS .....</b>	<b>56</b>
<b>2.1. Introducere.....</b>	<b>56</b>
<b>2.2. Investigarea reacției de sinteză a derivaților <math>\beta</math>-ciclodextrină-oligolactidă.....</b>	<b>57</b>
2.2.1. <i>Optimizarea și validarea condițiilor de analiză prin MALDI MS .....</i>	63
2.2.2. <i>Influența concentrației totale de reactanți.....</i>	68
2.2.3. <i>Influența raportului molar <math>\beta</math>-CD/LA .....</i>	69
2.2.4. <i>Influența temperaturii de reacție .....</i>	69
2.2.5. <i>Rolul DMF ca solvent pentru ROO .....</i>	74
<b>2.3. Concluzii.....</b>	<b>82</b>
<b>3. CUANTIFICAREA REACȚIILOR DE TRANSESTERIFICARE ÎN SISTEME CICLODEXTRINĂ-OLIGOLACTIDĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS .....</b>	<b>84</b>
<b>3.1. Introducere.....</b>	<b>84</b>
<b>3.2. Investigarea reacțiilor de transesterificare în sinteza derivaților <math>\beta</math>-ciclodextrină-oligolactidă .....</b>	<b>85</b>
3.2.1. <i>Influența temperaturii și a tipului de solvent.....</i>	92
3.2.2. <i>Influența raportului molar inițiator/monomer (<math>\beta</math>-CD/LA) .....</i>	96

3.2.3. Influența concentrației totale de reactanți.....	97
3.2.4. Influența organocatalizatorilor.....	99
<b>3.4. Concluzii.....</b>	<b>104</b>
<b>4. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA STRUCTURALĂ AVANSATĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS A DERIVAȚILOR DE CICLODEXTRINĂ-OLIGOCAPROLACTONĂ .....</b>	<b>106</b>
<b>4.1. Introducere.....</b>	<b>106</b>
<b>4.2. Studiul preliminar al sintezei derivaților <math>\beta</math>-ciclodextrină-oligocaprolactonă .....</b>	<b>106</b>
4.2.1. Caracterizarea prin MALDI MS a derivaților $\beta$ -CDCL .....	108
4.2.2. Caracterizare prin RMN a derivaților $\beta$ -CDCL .....	111
4.2.3. Cinetica reacției de obținere a $\beta$ -CDCL determinată prin spectrometrie de masă MALDI și RMN .....	117
4.2.4. Influența solventului în sinteza $\beta$ -CDCL determinată prin MALDI MS .....	121
4.2.5. Influența organocatalizatorilor în sinteza $\beta$ -CDCL determinată prin MALDI MS ..	126
<b>4.3. Concluzii.....</b>	<b>128</b>
<b>5. MODIFICAREA CONTROLATĂ A CICLODEXTRINEI PRIN OLIGOMERIZAREA PRIN DESCHIDERE DE CICLU A <math>\epsilon</math>-CAPROLACTONEI ÎN PREZENȚA ORGANOCATALIZATORILOR TBD ȘI DBU.....</b>	<b>130</b>
<b>5.1. Introducere.....</b>	<b>130</b>
<b>5.2. Investigarea sintezei derivaților <math>\beta</math>-CDCL.....</b>	<b>131</b>
5.2.1. Obținerea derivaților $\beta$ -CDCL în absența organocatalizatorilor .....	133
5.2.2. Modificarea $\beta$ -CD în DMSO.....	135
5.2.3. Studii comparative $^1\text{H}$ RMN și MALDI MS pentru procesul ROO al $\epsilon$ -CL organocatalizat de DBU .....	138
5.2.4. Studii comparative $^1\text{H}$ RMN și MALDI MS pentru procesul ROO al $\epsilon$ -CL organocatalizat de TBD .....	146
5.2.5. Influența raportului molar $\beta$ -CD/TBD asupra procesului ROO al monomerului $\epsilon$ -CL – cinetica MALDI MS .....	160
5.2.6. Influența raportului molar $\beta$ -CD/ $\epsilon$ -CL .....	162
5.2.7. Influența cavității $\alpha$ -, $\beta$ -, sau $\gamma$ -CD în procesul ROO al $\epsilon$ -CL – cinetică MALDI MS	165
<b>5.3. Concluzii.....</b>	<b>168</b>
<b>6. MONITORIZAREA REACȚIILOR DE OBȚINERE A DERIVAȚILOR CICLODEXTRINĂ-OLIGOVALEROLACTONĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS .....</b>	<b>170</b>
<b>6.1. Introducere.....</b>	<b>170</b>
<b>6.2. Investigarea reacției de sinteză a derivaților ciclodextrină-oligovalerolactonă.....</b>	<b>171</b>
6.2.1. Caracterizarea produșilor de tip $\beta$ -CDVL prin MALDI MS și RMN.....	171
6.2.2. Reacția prin deschidere de ciclu a $\delta$ -VL inițiată de $\beta$ -CD .....	176
6.2.3. Influența cavității $\alpha$ -, $\beta$ -, sau $\gamma$ -CD asupra procesului ROO al $\delta$ -VL .....	186
<b>6.3. Concluzii.....</b>	<b>190</b>
<b>7. ELECTROFILAREA CICLODEXTRINELOR MODIFICATE CU OLIGOESTERI .....</b>	<b>191</b>

<b>7.1. Electofilarea derivați <math>\alpha</math>-, <math>\beta</math>- și <math>\gamma</math>-CDLA.....</b>	<b>192</b>
7.1.1. Caracterizarea derivaților $\alpha$ -, $\beta$ - și $\gamma$ -CDLA.....	193
7.1.2. Procesul de electrofilare al derivaților CDLA.....	194
7.1.2.1. Influența solventului asupra procesului de electrofilare .....	195
7.1.2.2. Influența concentrației și a tipului de CD asupra procesului de electrofilare .....	195
7.1.3. Determinarea higroscopicității nanofibrelor prin studii de sorbție dinamică.....	199
<b>7.2. Electrofilarea ciclodextrinelor modificate cu oligocaprolactonă și oligovalerolactonă.....</b>	<b>202</b>
7.2.1. Caracterizarea derivaților $\beta$ -CDCL și $\beta$ -CDVL .....	202
7.2.2. Procesul de electrofilare al derivaților $\beta$ -CDVL și $\beta$ -CDCL .....	203
<b>7.3. Electrofilarea derivaților ciclodextrină-oligolactidă cu compuși bioactivi.....</b>	<b>207</b>
<b>7.3.1. Nanofibre cu curcumină .....</b>	<b>207</b>
7.3.1.1. Procesul de electrofilare al $\alpha$ -, $\beta$ - și $\gamma$ -CDLA cu curcumină .....	208
7.3.1.2. Caracterizarea structurală a nanofibrelor $\alpha$ -, $\beta$ - și $\gamma$ -CDLA/curcumină.....	209
7.3.1.3. Activitatea antioxidantă a nanofibrelor $\alpha$ -, $\beta$ -, și $\gamma$ -CDLA/curcumină.....	218
7.3.2. Nanofibre cu magnolol și honokiol.....	219
7.3.2.1. Procesul de electrofilare al $\beta$ -CDLA cu magnolol și honokiol .....	220
7.3.2.2. Caracterizarea structurală a nanofibrelor $\beta$ -CDLA cu magnolol și honokiol .....	221
7.3.2.3. Activitatea antioxidantă a nanofibrelor $\beta$ -CDLA cu magnolol și honokiol .....	224
7.3.3. Nanofibre cu enrofloxacină.....	227
7.3.3.1. Procesul de electrofilare al $\beta$ -CDLA cu enrofloxacină .....	228
7.3.3.2. Caracterizarea structurală a nanofibrelor $\beta$ -CDLA cu enrofloxacină.....	229
7.3.3.3. Activitatea antibacteriană a nanofibrelor $\beta$ -CDLA cu enrofloxacină.....	234
<b>7.4. Concluzii.....</b>	<b>237</b>
<b>8. MATERIALE ȘI METODE .....</b>	<b>239</b>
<b>8.1. Materiale.....</b>	<b>239</b>
<b>8.2. Sinteza derivaților de ciclodextrină pentru studiul cineticii de reacție .....</b>	<b>239</b>
8.2.1. Sinteza derivaților $\beta$ -ciclodextrină-oligolactidă.....	239
8.2.2. Sinteza derivaților $\beta$ -ciclodextrină-oligocaprolactonă.....	240
8.2.3. Sinteza derivaților $\beta$ -ciclodextrină-oligovalerolactonă.....	243
<b>8.3. Sinteza derivaților de ciclodextrină utilizați în procesul de electrofilare .....</b>	<b>244</b>
<b>8.4. Electrofilarea derivaților ciclodextrină-oligoesteri.....</b>	<b>246</b>
<b>8.5. Metode de caracterizare.....</b>	<b>248</b>
8.5.1. Spectrometrie de masă MALDI MS .....	248
8.5.2. Rezonanță magnetică nucleară (RMN).....	250
8.5.3. Alte metode de caracterizare .....	253
<b>CONCLUZII GENERALE.....</b>	<b>256</b>
<b>DISEMINAREA REZULTATELOR ȘI ALTE ACTIVITĂȚI ȘTIINȚIFICE .....</b>	<b>260</b>
<b>REFERINȚE.....</b>	<b>264</b>

## INTRODUCERE

În prezent, una dintre cele mai importante provocări cu care se confruntă societatea este conservarea planetei. În ultimul deceniu, a existat o creștere notabilă a interesului pentru înlocuirea resurselor fosile finite cu biomasa care servește drept materie primă durabilă și regenerabilă pentru fabricarea de materiale noi cu proprietăți îmbunătățite [1]. Printre compușii derivați din biomasă, se numără și ciclodextrinele (CD). Aceste oligozaharide ciclice sunt obținute prin degradarea enzimatică a amidonului [2]. Cea mai importantă proprietate a CD este capacitatea de a încapsula molecule hidrofobe în cavitate prin interacțiuni fizice, ceea ce conduce la creșterea solubilității moleculei oaspete. Această particularitate recomandă CD pentru o gamă largă de aplicații în purificarea apei [3], cataliză [4,5], chimia analitică [6], industria alimentară [7], dar mai ales în domeniul farmaceutic [8-11], pentru creșterea solubilității în apă a moleculelor de medicament.

Pe de altă parte, CD native au solubilitate limitată, ceea ce reprezintă un dezavantaj. Astfel, modificările chimice ale CD devin necesare pentru a depăși această limitare. Dintre CD modificate, derivații esterificați au o importanță deosebită datorită proprietăților lor de biocompatibilitate, biodegradabilitate și toxicitate redusă [12].

Esterificarea CD prin diferite metode (esterificare clasică, enzimatică sau reacție de polimerizare prin deschidere de ciclu a lactonelor și lactidelor) conduce la derivați cu grad de substituție (SD) variabil și izomeri de poziție. Acest fapt este o consecință a numărului ridicat de grupări hidroxil care pot suferi reacții de substituție (18, 21, sau 24 în cazul  $\alpha$ -,  $\beta$ -, sau  $\gamma$ -CD) și a reactivității lor relativ similare (o treime fiind grupări primare, iar două treimi secundare), analiza structurală a derivaților devenind mai dificilă. Modificarea CD prin esterificare clasică sau enzimatică (acizi carboxilici, cloruri acide, anhidride, sau esteri vinilici) conduce, în general, la substituția cu o moleculă de masă moleculară joasă per grupare hidroxil. În contrast, reacțiile de oligomerizare ale esterilor ciclici au ca rezultat formarea derivaților având mai multe unități monomere per situs activ. Astfel, complexitatea probei din punct de vedere structural poate crește datorită dispersității masei moleculare caracteristică substituenților oligomerici. Toate aceste elemente fac din caracterizarea structurală a derivaților de CD o provocare, fiind necesare noi metode de analiză structurală complexe pentru a avea o imagine clară asupra proceselor de derivatizare și structurii chimice a compușilor.

Dezvoltarea analizei prin spectrometrie de masă cu energie joasă de ionizare, în special ionizarea prin *electrospray* (ESI) și desorbție/ionizare laser asistată de matrice (MALDI) [13,14], a permis o caracterizare structurală mai precisă la nivel molecular a compușilor cu arhitecturi complexe, cum sunt derivații de CD. În ultimele trei decenii, CD native și derivații acestora au beneficiat de analiza prin spectrometrie de masă pentru determinarea maselor moleculare și distribuției acestora, identificarea structurii unităților atașate și a grupărilor terminale, sau detectarea unor compușilor rezultați din reacții secundare [15-25].

În particular, spectrometria de masă cu ionizare MALDI este o metodă analitică importantă pentru determinarea gradului de substituție al derivaților de CD deoarece produce specii încărcate cu o singură sarcină spre deosebire de ESI care produce specii cu sarcini multiple. Totuși, MALDI MS poate furniza informații eronate privind masa probelor polimerice din cauza eficienței de ionizare diferite a compușilor cu masă moleculară variabilă [26], fiind astfel necesară validarea rezultatelor prin alte tehnici analitice. Spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (RMN) este cea mai utilizată tehnică pentru analiza structurală a derivaților de CD permițând validarea datelor obținute prin spectrometrie de masă. Cu toate acestea, caracterizarea RMN a derivaților de CD parțial esterificați poate fi uneori dificilă din cauza lărgirii semnalelor și a lipsei standardelor de CD substituie, necesitând la rândul ei tehnici de caracterizare complementare.

Utilitatea CD esterificate prin modificarea proprietăților de solubilitate este amplificată de faptul că acestea își mențin capacitatea de a încapsula molecule hidrofobe, ceea ce permite prepararea complexelor de incluziune cu o gamă diversă de medicamente, cu utilizare în domeniul farmaceutic. Prin urmare, diferite medicamente (albendazol, aciclovir, luteină, cefradină, pindolol și amoxicilină) au fost încapsulate în CD esterificate [27-32]. Modificările CD cu acizi grași conduc la molecule amfifile care pot forma structuri organizate prin auto-asamblare, ducând la nanoagregate biocompatibile, precum micle [28,33,34], sfere [28,35], vezicule [29,36] și particule de formă neregulată, în formă de tijă sau sferice cu structuri matriciale sau lamelare [37]. În plus, derivații CD amfifili pot îmbunătăți transportul medicamentelor încapsulate [38].

De asemenea, CD esterificate pot fi utilizate ca elemente de bază pentru rețele polimerice biodegradabile prin scidarea legăturilor esterice [39-41], sau pot fi electrofilate fără polimeri (EFP) pentru a forma fibre, datorită solubilității ridicate [42]. Mai mult, acest tip de derivați a

fost utilizat pentru transportul metalelor grele prin membrane [43] sau îndepărtarea din apă a substanțelor chimice care perturbă sistemul endocrin [44]. De asemenea, au fost dezvoltate acoperiri pentru polimeri comerciali (polipropilenă, polietilenă, policlorură de vinil, poliuretan) [45], în scopul hidrofilizării suprafețelor industriale.

CD esterificate, datorită numărului mare de situsuri care pot fi modificate chimic, și-au găsit aplicații și în chimia macromoleculară ca inițiatori pentru polimerizarea prin deschidere de ciclu (ROP) [46-48] sau polimerizarea radicalică cu transfer de atomi [49]. În plus, acestea pot fi folosite drept molecule purtătoare de fotoinițiatori și agenți de reticulare multifuncționali atunci când sunt legate de oxidul de bis(acil)fosfan [50].

O altă direcție în cercetare urmărește capacitatea CD de a forma complecși de incluziune cu diferite molecule oaspete, putând fi exploataată pentru controlul regioselectivității reacțiilor de substituție [51]. Spre exemplu, reacția de transesterificare a esterilor vinilici și nitrofenilici, în prezența CD, conduce la CD esterificate exclusiv la grupările hidroxil secundare [52]. Selectivitatea substituției este determinată de includerea speciilor reactive în cavitatea CD într-o fază inițială a reacției. Această caracteristică interesantă legată de efectele incluziunii în molecula de CD a fost explorată prin efectuarea reacției prin deschidere de ciclu a esterilor ciclici în prezența CD, conducând la ciclodextrine modificate cu oligoesteri (CDOE). Influența CD în astfel de reacții a fost demonstrată în studiile efectuate de Takashima *et al.*, care au arătat că esterii ciclici suferă reacții de transesterificare cu grupările hidroxil secundare ale CD [46]. Mecanismul exact prin care CD influențează astfel de reacții nu a fost încă stabilit, dar a fost dovedită implicarea proceselor fizice de includere a esterilor ciclici în cavitatea CD [47].

În acest context, ipoteza care ghidează această lucrare de doctorat este investigarea reacțiilor de oligomerizare prin deschidere de ciclu (ROO) în prezență de CD pentru o mai bună înțelegere a rolului CD în aceste reacții. Dată fiind complexitatea caracterizării structurale a compușilor pe bază de CD în diferite faze ale reacției, metodele analitice vor fi optimizate pentru a reflecta cu precizie modificările structurale induse prin modificarea parametrilor de reacție. Spectrometria de masă are un rol esențial în această lucrare, generând informații precise în caracterizarea structurală a compușilor rezultați în urma proceselor ROO. Totodată, teza de doctorat urmărește demonstrarea potențialului de aplicabilitate a compușilor sintetizați prin dezvoltarea unor noi formulări adaptate pentru aplicații biomedicale utilizând tehnica de

electrofilare EFP, punându-se accent pe o abordare interdisciplinară care cuprinde chimia macromoleculară, știința materialelor și bioingineria medicală.

Obiectivele specifice care au stat la baza elaborării tezei de doctorat includ:

**O1** – Urmărirea influenței parametrilor de sinteză în reacțiile prin deschidere de ciclu ale esterilor ciclici (lactidă – LA, lactone ( $\epsilon$ -caprolactonă –  $\epsilon$ -CL,  $\delta$ -valerolactonă –  $\delta$ -VL) inițiate/catalizate de  $\beta$ -CD asupra structurii și proprietăților conjugatelor CDOE prin spectrometrie de masă, MS/MS și spectroscopie RMN;

**O2** – Verificarea comportării a altor doi omologi,  $\alpha$ -, și  $\gamma$ -CD în reacțiile prin deschidere de ciclu a esterilor;

**O3** – Valorificarea potențialului aplicativ al derivaților de CD sintetizați prin investigarea capacității de electrofilare și încorporare a compușilor cu activitate biologică.

Teza de doctorat este compusă din două secțiuni principale. **Partea I (Capitolul 1)** prezintă datele de literatură științifică relevante pentru subiectul tezei. **Partea a II-a** include cercetările proprii și rezultatele originale obținute, fiind structurată în **Capitolele 2-8**.

**Capitolul 1** prezintă succint aspecte generale legate de procesul ROO al esterilor ciclici și investigarea cinetică a acestei reacții, modificarea CD cu grupări esterice și utilitatea practică a derivaților rezultați, dar și de caracterizarea prin spectrometrie de masă a polimerilor. În special, este accentuat stadiul actual al cercetărilor privind caracterizarea prin spectrometrie de masă a CD esterificate.

**Capitolul 2** își propune să extindă aria de utilizare a analizei MALDI MS prin monitorizarea cineticii reacției de sinteză a derivaților de  $\beta$ -ciclodextrină-oligolactidă ( $\beta$ -CDLA). Mai exact, tehnica MALDI MS a fost folosită pentru a estima variațiile masei moleculare medii ( $M_n$ ) în timp, pentru o mai bună înțelegere a procesului chimic. Datele MALDI MS au fost validate prin măsurarea conversiei monomerului cu ajutorul spectroscopiei  $^1\text{H}$  RMN. În continuare, s-a studiat efectul parametrilor de reacție, în special influența solvenților dimetilformamidă (DMF), dimetilsulfoxid (DMSO) și N-metil-2-pirolidonă (NMP). Pornind de la analiza spectrelor de masă și confirmarea structurală prin experimente de fragmentare de tip MS/MS au fost semnalate o serie de procese secundare care influențează reacțiile studiate.

În **Capitolul 3**, este propusă o nouă metodă de cuantificare prin MALDI MS a proceselor de transesterificare în reacția de tip ROO a lactidei, urmărind evoluția gradului de



transesterificare în paralel cu masa derivaților  $\beta$ -CDLA. Utilizând drept sistem de reacție model sinteza  $\beta$ -CDLA, a fost determinată influența unor parametri de reacție, în special a organocatalizatorilor, asupra proceselor de transesterificare. Metoda MALDI MS dezvoltată permite evaluarea comparativă a sistemelor de reacție pe bază de lactidă, prin determinarea vitezei de transesterificare specifice. Această abordare se dovedește a fi utilă, în general, pentru optimizarea proceselor ROO ale monomerului LA, oferind date valoroase în ceea ce privește influența parametrilor de reacție asupra reacțiilor secundare de transesterificare.

**Capitolul 4** prezintă monitorizarea prin spectrometrie de masă MALDI MS a reacțiilor ROO ale  $\varepsilon$ -CL care conduc la formarea derivaților de tip  $\beta$ -ciclodextrină-oligocaprolactonă ( $\beta$ -CDCL). Într-o primă fază, MALDI MS și  $^1\text{H}$  RMN au permis stabilirea condițiilor de analiză și validarea rezultatelor. Astfel, analiza MALDI MS a fost folosită pentru a determina influența solvenților și efectul organocatalizatorilor în ROO a  $\varepsilon$ -CL. În plus, profilul specific de fragmentare rezultat în urma proceselor colizionale controlate în fază de gaz (MS/MS) a fost utilizat pentru a confirma structura produșilor de reacție secundari detectați prin MALDI MS. Studiul prin spectroscopie RMN a permis corelarea creșterii gradului de substituție cu situsul de esterificare, arătând pentru prima dată, conform studiilor de literatură, posibilitatea transferului oligoesterilor de la baza mare la baza mică a moleculelor de  $\beta$ -CD, în timpul proceselor de tip ROO.

În **Capitolul 5** este investigată reacția de obținere a derivaților  $\beta$ -CDCL, realizată în prezența unor baze puternic nucleofile, la temperatura camerei. Cinetica reacțiilor este stabilită atât prin spectrometrie de masă MALDI MS, cât și prin spectroscopie  $^1\text{H}$  RMN. Au fost identificate particularitățile structurale ale compușilor obținuți, precum și modul diferit de substituție după timpi specifici de reacție, utilizând organocatalizatori diferiți. Metoda de sinteză optimizată a permis prepararea unor derivați  $\beta$ -CDCL substituți selectiv la baza mare sau la baza mică a moleculei de  $\beta$ -CD. Rezultatele experimentale au condus la schimbarea percepției asupra modului prin care CD influențează reacțiile prin deschidere de ciclu ale  $\varepsilon$ -CL.

**Capitolul 6** prezintă procesul ROO al  $\delta$ -VL în soluție, utilizând  $\beta$ -CD și organocatalizatori puternic nucleofili. Reacțiile au fost monitorizate prin MALDI MS și spectroscopie  $^1\text{H}$  RMN, cu un acord bun între cele două metode. De asemenea, în aceste sisteme organocatalizate, au fost observate reacții de transesterificare prin ambele metode de analiză. Caracterizarea RMN a dezvăluit, în acest caz, substituția exclusivă la baza mică a  $\beta$ -CD, contrar modului de substituție

prezentat în literatură în cazul proceselor desfășurate în masă. Studiile cinetice au permis diferențierea reactivității asociate cu activarea prin incluziune a monomerului în cavitatea CD.

În **Capitolul 7** este valorificat potențialul aplicativ al derivaților CDOE prin investigarea capacității de electrofilare și încorporare a diferiților compuși cu activitate biologică. Elementele de originalitate constau în determinarea condițiilor optime de obținere a nanofibrelor din conjugate CDOE, precum și în integrarea de principii active utilizând procesul de electrofilare, fără utilizarea de polimeri adiționali care să faciliteze procesul. Astfel, studiul evidențiază în premieră posibilitatea de a obține formulări farmaceutice ale unor principii active sub formă de nanofibre (curcumină, magnolol, honokiol, enrofloxacină) utilizând compuși de tip CDOE. Morfologia sistemelor este investigată prin microscopie electronică de baleiaj (SEM) pentru a confirma obținerea fibrelor, iar higroscopicitatea materialelor este determinată prin studii de sorbție dinamică a vaporilor de apă (DVS). Metode de analiză precum RMN și spectroscopie infraroșu cu transformată Fourier (FTIR) sunt utilizate pentru confirmarea prezenței compușilor bioactivi în fibrele corespunzătoare. Proprietățile antioxidante sau antibacteriene ale formulărilor obținute sunt confirmate în urma unor testări adiționale.

**Capitolul 8** prezintă materialele, procedurile de sinteză și caracterizare utilizate pe parcursul tezei. De asemenea, sunt descrise tehnica de electrofilare și metodele de caracterizare ale nanofibrelor.

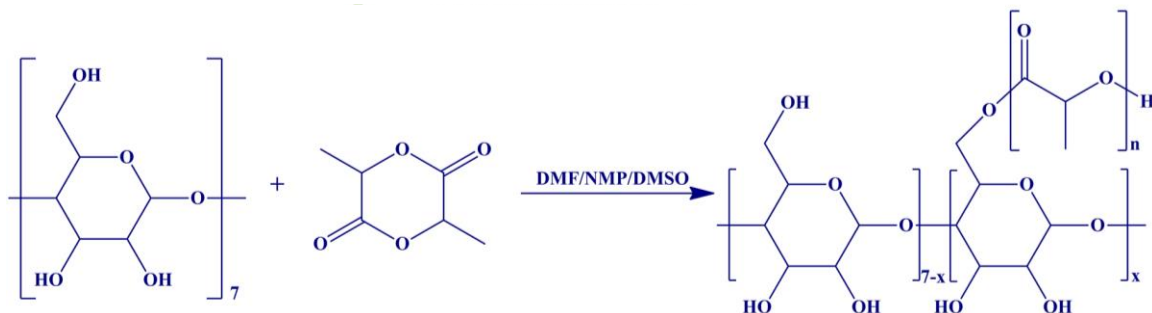
Teza de doctorat se încheie cu concluziile generale desprinse din studiile efectuate, principalele reperi de diseminare a activității științifice efectuate pe parcursul stagiului de doctorat și referințele bibliografice utilizate la elaborarea tezei.

## CONTRIBUȚII PERSONALE

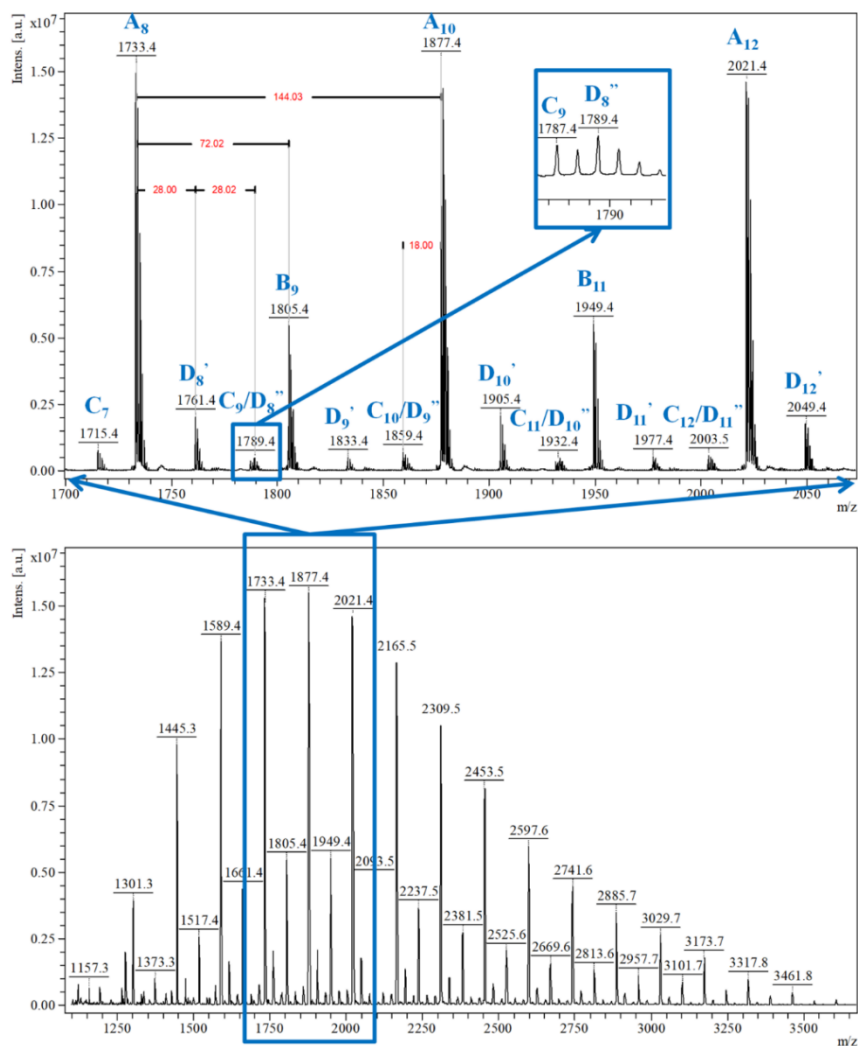
### 2. MONITORIZAREA SINTEZEI DERIVAȚILOR DE CICLODEXTRINĂ-OLIGOLACTIDĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS

ROO a LA în prezență de  $\beta$ -CD (**Schema 2.1**) conduce la modificarea oligozaharidei cu lanțuri de oligoester în special la baza mică a  $\beta$ -CD, care conține grupări hidroxil primare [32,160]. Spectrele de masă conțin diverse serii de semnale situate la distanțe de 72 sau 144 Da, specifice lanțurilor OLA (**Figura 2.4**). Prezența mai multor serii de semnale este un rezultat al formării de  $\beta$ -CDLA cu structuri diferite. În **Tabelul 2.2** sunt prezentate ecuațiile utilizate în

asocierea seriilor de semnale din spectrul de masă cu diverse structuri specifice, regăsite în produsul  $\beta$ -CDLA<sub>#11</sub>.



**Schema 2.1.** Oligomerizarea prin deschidere de ciclu a LA în prezența  $\beta$ -CD



**Figura 2.4** Spectrul de masă MALDI MS pentru  $\beta$ -CDLA<sub>#11</sub> – adnotarea semnalelor a fost realizată conform ecuațiilor din **Tabelul 2.2**

**Tabel 2.2** Ecuațiile utilizate pentru atribuirea semnalelor monoizotopice corespunzătoare  $\beta$ -CDLA din spectrele de masă MALDI MS

Serie	$m/z$
A <sup>a</sup>	$72 \times n$ (lactat) + 1134 ( $\beta$ -CD) + 23 ( $Na^+$ )
B <sup>b</sup>	$72 \times n$ (lactat) + 1134 ( $\beta$ -CD) + 23 ( $Na^+$ )
C	$72 \times n$ (lactat) + 1134 ( $\beta$ -CD) + 23 ( $Na^+$ ) + 54 (acrilat)
D	$72 \times n$ (lactat) + 1134 ( $\beta$ -CD) + 23 ( $Na^+$ ) + 28 (formiat)
E <sup>c</sup>	$72 \times n$ (lactat) + 1134 ( $\beta$ -CD) + 23 ( $Na^+$ ) + 97 (4-(metilenimino)butanoat)
F <sup>c</sup>	$72 \times n$ (lactat) + 1134 ( $\beta$ -CD) + 23 ( $Na^+$ ) + 100 (4-(metilenamino)butanoat)

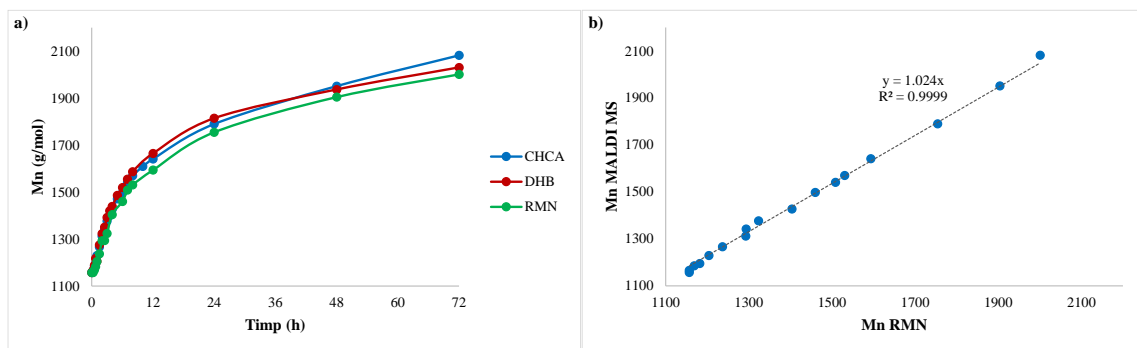
<sup>a</sup> număr par de unități lactat

<sup>b</sup> număr impar de unități lactat

<sup>c</sup> observată în spectrele de masă ale  $\beta$ -CDLA sintetizate în NMP (#13)

### 2.2.1. Optimizarea și validarea condițiilor de analiză prin MALDI MS

Pentru a observa efectele matricei asupra evoluției  $Mn$ , spectrele MALDI MS ale  $\beta$ -CDLA obținute în timpul reacției la momente specifice au fost înregistrate folosind CHCA („strat subțire”) sau DHB („picătură uscată”). Din punct de vedere cantitativ, nu există diferențe semnificative în evoluția  $Mn$  determinată prin MALDI MS cu cele două matrice (**Figura 2.6a**). Cu toate acestea, valorile  $Mn$  calculate pentru timpi de reacție mai mari de 48 h (adică pentru probe cu mai mult de 5 unități de LA atașate) sunt ușor mai ridicate în cazul analizei cu CHCA. Valorile diferite ale  $Mn$  pentru probele preparate cu DHB și CHCA pot fi o consecință a diferenței de solubilitate ale  $\beta$ -CDLA în solvenții folosiți pentru prepararea probelor, odată cu creșterea masei.



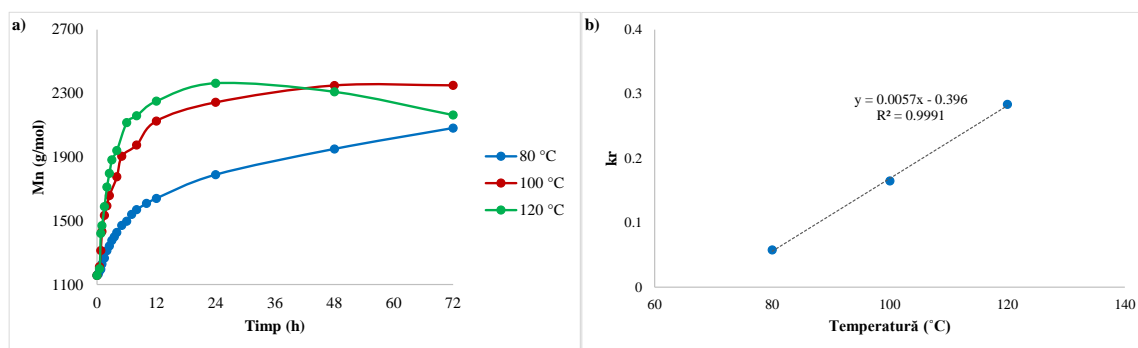
**Figura 2.6.** a) Evoluția  $Mn$  a  $\beta$ -CDLA<sub>#3</sub> prin MALDI MS (CHCA și DHB) și <sup>1</sup>H RMN; b) concordanța dintre evoluția  $Mn$  determinată prin MALDI MS (cu matricea CHCA) și <sup>1</sup>H RMN

Considerând că prepararea probelor cu matricea CHCA este mai potrivită pentru analiza  $\beta$ -CDLA, aceasta a fost utilizată pentru a determina cineticile reacțiilor ROO prin MALDI MS. Rezultatele evoluției valorilor  $Mn$  obținute prin analiza spectrelor de masă au fost validate

utilizând estimarea conversiei monomerului prin  $^1\text{H}$  RMN. Reprezentarea grafică comparativă a gradului de concordanță între cele două metode relevă acuratețea determinărilor cinetice realizate prin tehnica MALDI MS, cu  $y = 1,024 x$  și  $R^2 = 0,99$  (**Figura 2.6b**). Anterior, au fost comparate valorile  $Mn$  ale PLA utilizând MALDI MS și SEC, urmărindu-se gradul de corelare al rezultatelor la nivelul tendinței generale de creștere a  $Mn$  [100]. Deși s-a determinat o dependență liniară între valorile obținute prin SEC și MALDI MS, valorile  $Mn_{SEC}$  au fost de 1,5 ori mai ridicate comparativ cu  $Mn_{MALDI MS}$ .

#### 2.2.4. Influența temperaturii de reacție

Timpul de reacție poate fi scurtat fie prin creșterea temperaturii de reacție, fie prin adăugarea de organocatalizatori pentru ROP [72,74,112,283]. Astfel, efectul temperaturii asupra procesului ROO a fost investigat, atât din punct de vedere calitativ, cât și cantitativ. În **Figura 2.12a** este reprezentată evoluția  $Mn$  (MALDI MS) pentru sisteme de reacție desfășurate la temperaturi diferite (80, 100, 120 °C).

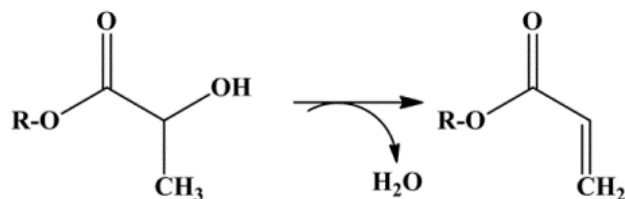


**Figura 2.12.** a) Influența temperaturii asupra valorilor  $Mn$  ale  $\beta$ -CDLA în DMF; b) variația vitezei de reacție aparentă ( $k_r$ ) cu temperatura (#3,8,11)

Creșterea în două etape a  $Mn$  este observată nu numai la 80 °C, ci și la 100 °C și 120 °C, dar într-un mod diferit. Evoluția  $Mn$  prezintă o perioadă inițială de creștere cu atât mai rapidă, cu cât temperatura este mai ridicată. Aceasta este urmată de o creștere mai lentă sau chiar de o scădere a valorilor pentru temperatura de 120 °C. Analiza spectrelor MALDI MS arată că, odată cu creșterea temperaturii, valorile maxime ale  $Mn$  pot fi atinse mai rapid, în 48 h la 100 °C, respectiv în 24 h la 120 °C (**Figura 2.12a**). Valorile determinate ale vitezei aparente de reacție ( $k_r$ ) cresc semnificativ de la 80 °C ( $k_r = 0,058$ ), la 100 °C ( $k_r = 0,165$ ) și 120 °C ( $k_r = 0,284$ ). Valorile  $k_r$ , calculate pe regiunea de creștere liniară a  $Mn$  (0 până la 8 h), au fost reprezentate grafic în funcție de temperatura de reacție (**Figura 2.12b**). Vitezele de reacție aparente cresc

liniar odată cu creșterea temperaturii, confirmând că procesul prin deschidere de ciclu este realizat predominant de un singur tip de inițiator. Cu toate acestea, sistemul de reacție suferă o abatere clară de la cinetica de ordinul întâi după 8 h. Acest fapt poate fi cauzat de împiedicările sterice rezultate în urma creșterii SD și ocuparea situsurilor active.

Din evoluția  $Mn$  la 120 °C (**Figura 2.12a**) se poate observa că  $\beta$ -CDLA suferă reacții de depolimerizare după atingerea valorii maxime a  $Mn$  la aproximativ 24 h. Reducerea  $Mn$  indică o intensificare a reacțiilor de transesterificare sau a altor procese de degradare activate termic, care implică lanțurile de OLA din produs. Pe lângă reacțiile de transesterificare, au fost observate și alte procese care sunt influențate de temperatura de reacție în spectrul de masă al produsului  $\beta$ -CDLA<sub>#11</sub> obținut în DMF la 120 °C (seriile C și D – **Figura 2.4**). Structura produșilor secundari a fost confirmată prin fragmentare MS/MS; acești produși nu au putut fi detectați prin RMN fiind în cantități reduse. Pentru *seria C*, valorile  $m/z$  sunt deplasate cu 18 spre stânga față de *seria A* și pot fi asociate cu degradarea lanțurilor de OLA prin eliminarea apei [107,287], rezultând un produs secundar cu grupări terminale de tip acrilat (**Schema 2.2**).

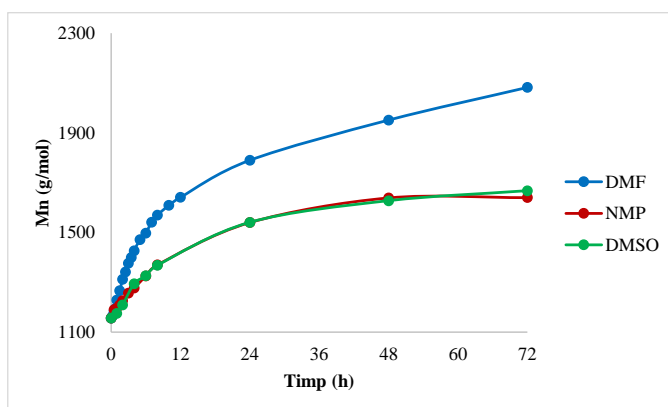


**Schema 2.2.** Eliminarea apei din OLA

#### 2.2.5. Rolul DMF ca solvent pentru ROO

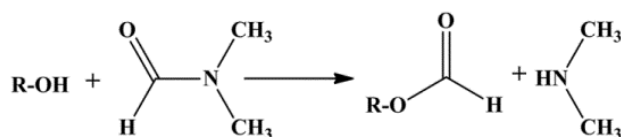
Alegerea solventilor pentru o reacție de tip ROO care implică atât  $\beta$ -CD, cât și LA este destul de restrânsă și, prin urmare, s-au luat în considerare DMF, NMP și DMSO. În acest context, se dorește stabilirea rolului solventului DMF în sinteza  $\beta$ -CDLA și, mai precis, dacă acest solvent este implicat sau nu ca activator în conversia LA. Evoluția  $Mn$  din **Figura 2.16** evaluată la 80 °C arată că utilizarea altor solventi decât DMF afectează valorile maxime ale  $Mn$ . Indiferent de solvent, evoluția  $Mn$  are două etape de creștere: o etapă inițială de creștere rapidă, până la aproximativ 20 h, urmată de o a doua etapă de creștere lentă. Totodată, se poate observa că pentru etape ulterioare ale reacției (peste 20 h) valorile  $Mn$  sunt practic constante în cazul DMSO și NMP, în timp ce pentru DMF se poate observa o creștere lentă, dar continuă. Un astfel de comportament poate fi explicat printr-o activare a grupărilor hidroxil secundare nou formate

doar în cazul DMF, similar mecanismului de activare al reacțiilor ROP în prezență de organocatalizatori.



**Figura 2.16.** Influența solventului asupra valorilor  $M_n$  ale  $\beta$ -CDLA la 80 °C (#3, 12, 15)

Scindarea legăturii amidice din DMF cu formarea de dimetilamină este posibilă în prezența grupărilor hidroxil (**Schema 2.5**) [291]. Aceasta din urmă poate influența procesul ROO, în mod similar organocatalizatorilor [72], prin activarea atacurilor nucleofile efectuate de grupările hidroxil; astfel, se poate explica și valoarea mai mare a  $k_r$  pentru reacțiile efectuate în DMF. Formarea aminei poate fi justificată și de culoarea galben pal a amestecului de reacție după 72 h. Scindarea legăturii amidice din DMF în timpul procesului ROO poate explica apariția *seriei D* (specii de tip CDLA-formiat) în spectrele de masă ale produșilor  $\beta$ -CDLA.



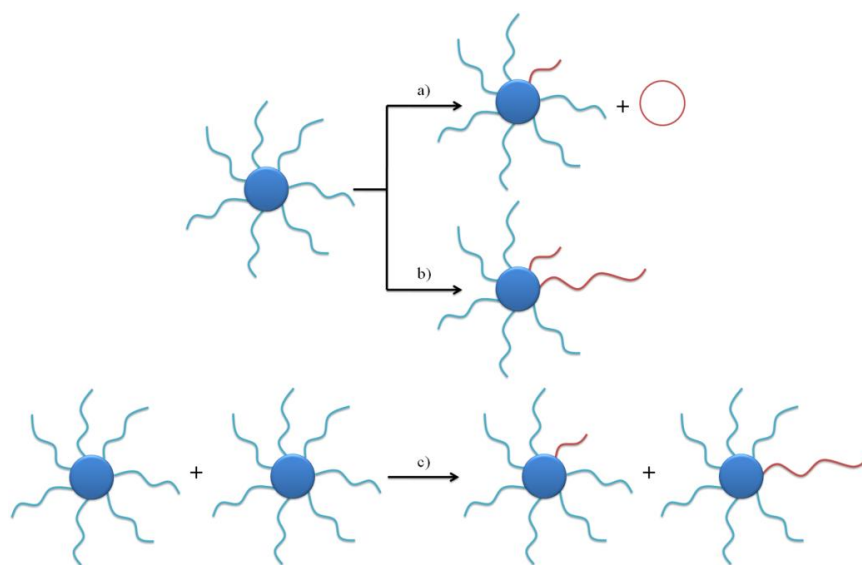
**Schema 2.5.** Scindarea legăturii amidice din DMF

### 3. CUANTIFICAREA REACȚIILOR DE TRANSESTERIFICARE ÎN SISTEME CICLODEXTRINĂ-OLIGOLACTIDĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS

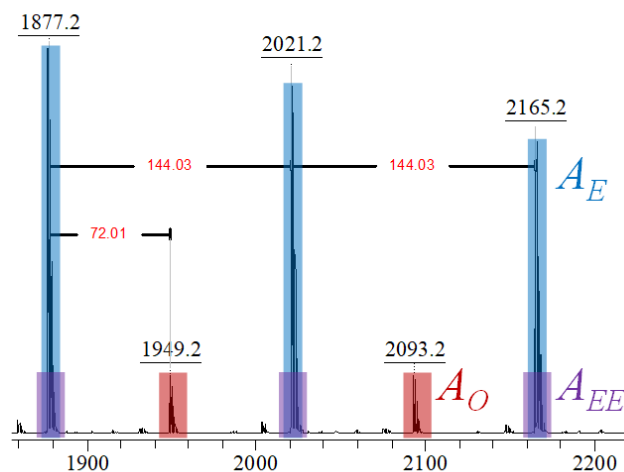
#### 3.2. Investigarea reacțiilor de transesterificare în sinteza derivaților $\beta$ -ciclodextrină-oligolactidă

Procesul ROP a LA în prezența  $\beta$ -CD ca inițiator, cu sau fără adăugare de catalizatori organici a fost considerat drept studiu de caz pentru dezvoltarea unei noi metode de cuantificare a reacțiilor de transesterificare prin spectrometrie de masă. În **Schema 3.1** sunt prezentate reacțiile de transesterificare care pot avea loc în aceste tipuri de sisteme.

Principiul metodei de cuantificare a reacțiilor de transesterificare se bazează pe spectrele de masă ale probelor  $\beta$ -CDLA, colectate la timpi de reacție specifici, care permit cuantificarea gradului de transesterificare ( $Tr$ ) pe baza celor două serii de semnale: o serie principală, de intensitate mai ridicată (*seria A* din **Figura 2.4**) în care semnalele se află la diferențe de 144 Da, serie corespunzătoare compușilor formați în urma procesului ROP, și o serie de semnale, de intensitate mai redusă, care apare la diferențe de 72 Da, asociată cu reacțiile de transesterificare (*seria B* din **Figura 2.4**). Spre exemplu, semnalele marcate cu albastru în **Figura 3.1**, sunt asociate cu speciile de  $\beta$ -CDLA având un număr par de unități lactat (*seria A*), iar semnalele marcate cu roșu corespund speciilor cu număr impar de unități lactat (*seria B*).



**Schema 3.1.** Reacții de transesterificare în sistemele de obținere a derivaților  $\beta$ -CDLA: a) reacție de ciclizare, b) schimburi intramoleculare, și c) schimburi intermoleculare



**Figura 3.1.** Zonă mărită a spectrului de masă corespunzând produsului  $\beta$ -CDLA

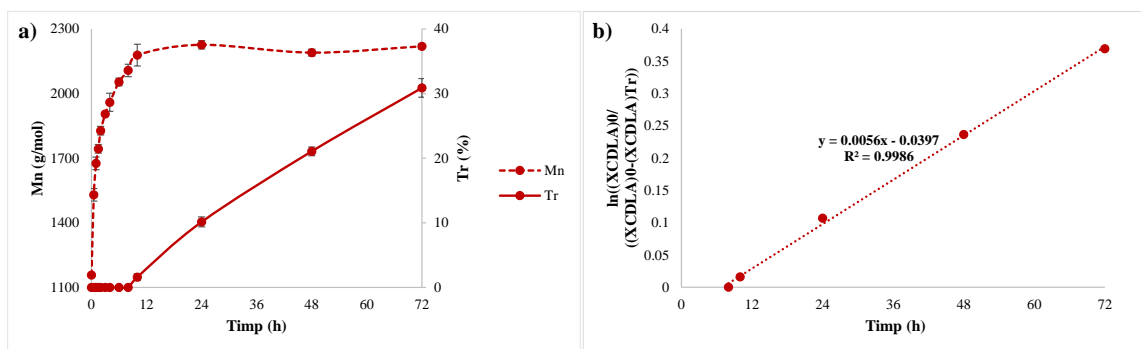


Se poate presupune că procesele de transesterificare care dau naștere speciilor de  $\beta$ -CDLA cu număr impar de unități monomere sunt în același timp responsabile de formarea unui număr echivalent de specii  $\beta$ -CDLA cu număr par de unități monomere (reprezentare în **Figura 3.1** cu mov). În studiul de față se iau în considerare atât semnalele cu  $n$  impar, cât și partea echivalentă a semnalelor cu  $n$  par pentru o cuantificare mai fidelă a  $Tr$ . Astfel, ponderea relativă a speciilor transesterificate din totalul speciilor de CDLA prezente în spectrul MS poate fi calculată utilizând următoarea ecuație:

$$Tr = \frac{\sum A_{TR}}{\sum A_{total}} * 100 = \frac{\sum(A_O + A_{EE})}{\sum(A_O + A_E)} * 100 \quad (3.1)$$

Evoluția  $Tr$  pentru reacția de sinteză a  $\beta$ -CDLA în prezența DMAP arată creșterea valorilor  $Tr$  până la 30% (**Figura 3.3a**). Acestea rezultă din două procese simultane evidențiate de caracterizarea MS: deschiderea ciclului LA, care scade valoarea lui  $Tr$  (creșterea semnalelor MS corespunzătoare speciilor cu număr par de unități lactat) și transesterificările, care măresc valoarea  $Tr$  (creșterea picurilor MS corespunzătoare speciilor cu număr impar de unități lactat). Graficul comparativ al valorilor  $Mn$  și  $Tr$  arată că procesele de transesterificare au loc continuu, chiar dacă valorile  $Mn$  rămân constante, nefiind astfel afectate de procesul ROO. Pentru a corela prevalența reacțiilor de transesterificare cu condițiile de reacție, se introduce viteza relativă de transesterificare ( $k_{Tr}^{app}$ ), care poate fi definită ca variația în timp a fracției speciilor  $\beta$ -CDLA transesterificate (**Figura 3.3b**) și poate fi calculată utilizând formula următoare:

$$k_{Tr}^{app} = \frac{d\left(\ln \frac{(X_{CDLA})_0}{(X_{CDLA})_0 - (X_{CDLA})_{Tr}}\right)}{dt} \quad (3.2)$$



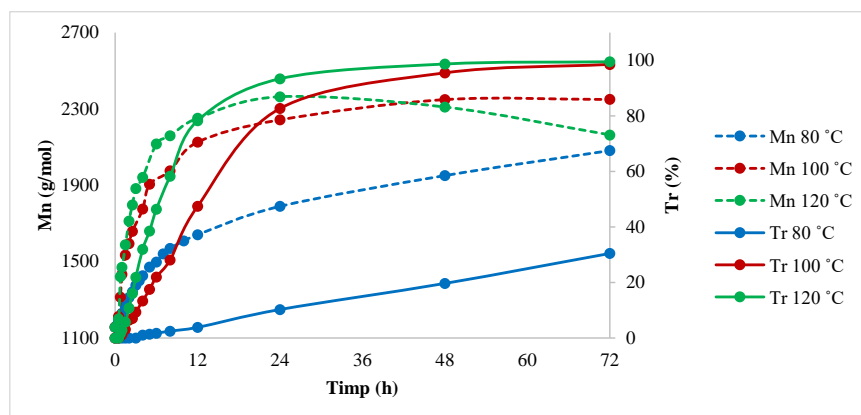
**Figura 3.3.** a) Evoluția valorilor  $Mn$  și  $Tr$  și b) graficul semilogaritm utilizat pentru a calcula  $k_{Tr}^{app}$  pentru reacția de sinteză a  $\beta$ -CDLA în prezența DMAP (#19)

Valoarea  $k_{Tr}^{app}$  poate fi asimilată cu o constantă aparentă a reacțiilor de transesterificare presupunând că valoarea  $Tr$  reflectă concentrația speciilor transesterificate în amestecul de

reacție. Într-o reacție ideală, valoarea  $k_{Tr}^{app}$  este 0, semnificând absența reacțiilor de transesterificare din sistem. Abaterea de la această valoare ideală arată prezența transesterificărilor indiferent de natura lor (ciclizare, schimburi intra- sau intermoleculare).

### 3.2.1. Influența temperaturii și a tipului de solvent

Studiile anterioare au arătat că temperatura de reacție determină o creștere a incidenței reacțiilor de transesterificare [62,63,68,112]. În DMF la 80 °C, incidența transesterificărilor este influențată de temperatura de reacție în ordinea:  $k_{Tr}^{app}{}_{80}$  (0,51) <  $k_{Tr}^{app}{}_{100}$  (6,17) <  $k_{Tr}^{app}{}_{120}$  (11,9) (**Figura 3.6**). Prin urmare, preponderența reacțiilor de transesterificare crește odată cu creșterea temperaturii, conform studiilor anterioare [68,115]. Studiul de optimizare a sintezei  $\beta$ -CDLA trebuie să ia în considerare minimizarea  $Tr$  în condițiile obținerii unui produs cu  $Mn$  cât mai ridicat. Pe măsură ce moleculele de  $\beta$ -CD sunt modificate, se remarcă o scădere a vitezei de conversie a LA în condițiile menținerii evoluției  $Tr$  constante ( $Tr$  liniar, în special pentru reacția efectuată la 80°C). Acest fapt sugerează că modificarea  $Tr$  este independentă de viteza procesului ROO a LA și este legată probabil doar de incidența unor reacții de transfer între situsurile de legare la molecula de  $\beta$ -CD. În același timp, lungimea crescută a lanțurilor OLA favorizează, pe lângă reacțiile de transesterificare de interschimb, apariția reacțiilor de ciclizare, cu reducerea  $Mn$ , fapt remarcat în cazul reacției efectuate la 120°C.

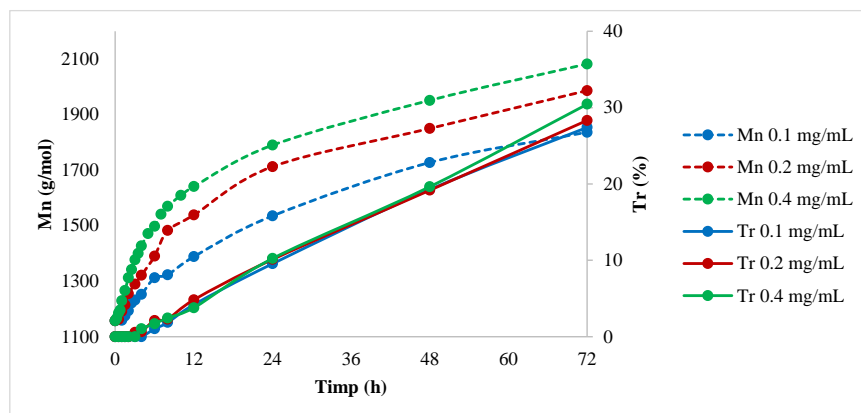


**Figura 3.6.** Influența temperaturii asupra evoluțiilor  $Mn$  și  $Tr$  pentru sistemele realizate în DMF (#3, 8, 11, **Tabelul 2.1**)

### 3.2.3. Influența concentrației totale de reactanți

Evaluarea influenței concentrației totale a reactanților (g/mL) în DMF asupra  $Tr$  la 80 °C și un raport molar  $\beta$ -CD/LA de 1/8 este prezentat în **Figura 3.12**. Valorile  $k_{Tr}^{app}$  arată că diferențele date de variația concentrației sunt foarte mici,  $k_{Tr}^{app}{}_{0.1}$  (0,46) <  $k_{Tr}^{app}{}_{0.2}$  (0,48) <

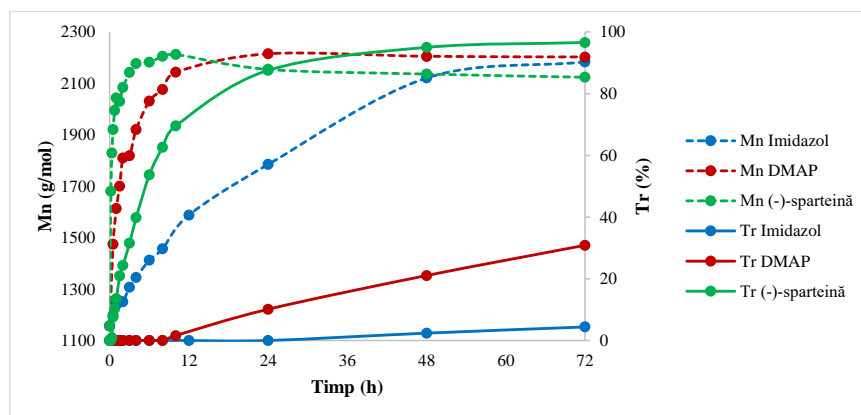
$k_{Tr}^{app}{}_{0.4}(0,51)$ , ceea ce denotă că sunt predominante reacțiile de transesterificare intramoleculară (pe aceeași moleculă de  $\beta$ -CD) în condițiile de reacție date.



**Figura 3.12.** Influența concentrației totale de reactanți asupra valorilor  $Mn$  și  $Tr$  pentru reacțiile realizate la 80 °C în DMF (#1-3, Tabelul 2.1)

#### 3.2.4. Influența organocatalizatorilor

Determinarea parametrului  $k_{Tr}^{app}$  prin metoda MALDI MS a permis stabilirea următoarei ierarhii de reactivitate în transesterificare:  $k_{Tr}^{app}{}_{imidazol}(0,09) < k_{Tr}^{app}{}_{DMAP}(0,56) < k_{Tr}^{app}{}_{(-)-sparteină}(12,1)$  (Figura 3.14).



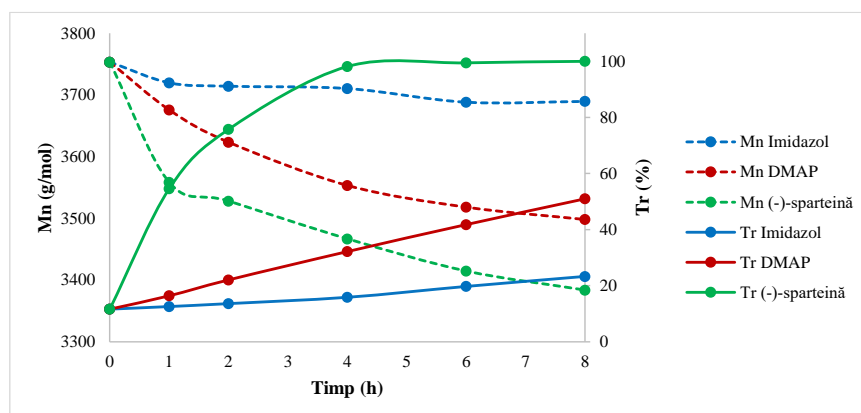
**Figura 3.14.** Evoluția  $Tr$  și  $Mn$  folosind diferiți organocatalizatori (#18 – imidazol, #19 – DMAP, #22 – (-)-sparteină, Tabelul 2.1)

S-a considerat utilă comparația sistemelor de reacție la momentul atingerii valorii maxime a  $Mn$ . Astfel, în cazul imidazolului, se observă că la  $Mn$  maximal de 2180 g/mol, valoarea atinsă de  $Tr$  este de doar 5%, în timp ce pentru DMAP la  $Mn$  de 2215 g/mol, valoarea  $Tr$  atinge 10%. Totuși, timpul necesar reacției realizate în prezența imidazolului este semnificativ mai mare. Dacă se urmărește optimizarea procesului pentru un  $Mn$  maxim în condițiile unui  $Tr$  minim, se

observă că (-)-sparteina conduce la  $Tr$  ridicat față de DMAP. Astfel, activarea utilizând DMAP se dovedește a fi soluția ideală considerând atât valorile  $Tr$ , cât și  $Mn$ . În schimb, dacă se ia în considerare durata procesului de reacție, (-)-sparteina poate reprezenta soluția optimă. După 3 h timp de reacție, utilizarea (-)-sparteinei conduce la valori ale  $Mn$  și  $Tr$  de 2145 g/mol, respectiv 31,5%.

### 3.3. Investigarea proceselor de transesterificare implicate în degradarea organocatalitică a $\beta$ -CDLA

Același produs  $\beta$ -CDLA a fost supus degradării în prezența a diferiți organocatalizatori pentru a determina implicarea acestora în procesele de reducere a  $Mn$  prin formarea de macrocicluri. Produsul  $\beta$ -CDLA utilizat are o valoare relativ ridicată a  $Mn$  (3750 g/mol) și în același timp o valoare redusă a  $Tr$  (11,65%). Degradările au fost efectuate pe parcursul a 8 h, în DMSO, la 80 °C, utilizând un raport echimolar  $\beta$ -CDLA/organocatalizator (Figura 3.18). Tendința observată pentru cei trei organocatalizatori studiați ( $k_{Tr}^{app}$  imidazol (2,02) <  $k_{Tr}^{app}$  DMAP (8,93) <  $k_{Tr}^{app}$  (-)-sparteină (92,65), rezultată din analiza procesului ROP, se păstrează și în acest caz.

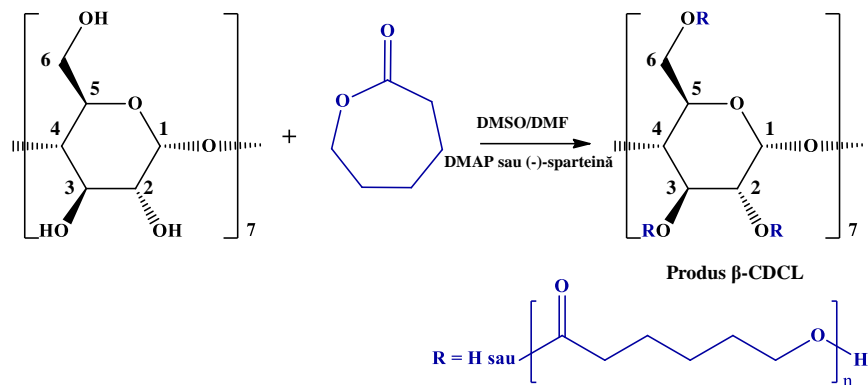


**Figura 3.18.** Evoluția  $Tr$  pe produsul  $\beta$ -CDLA utilizând diferiți catalizatori (imidazol, DMAP, (-)-sparteină) la 80 °C în DMSO

La utilizarea (-)-sparteinei,  $Tr$  atinge valoarea maximă în doar 4 h, dar reacțiile de transesterificare au loc și după această perioadă, fapt evidențiat de scăderea continuă a valorilor  $Mn$ . O scădere semnificativă a valorilor  $Mn$  se observă și în prezența DMAP până la 3400 g/mol,  $Tr$  atingând 51%, dar într-un timp mai îndelungat față de (-)-sparteină. Pe de altă parte, imidazolul conduce la degradarea cea mai puțin pronunțată a produsului  $\beta$ -CDLA, valoarea  $Mn$  fiind de 3700 g/mol. Acest organocatalizator crește foarte puțin  $Tr$  al produsului, ajungând la 23% în 8 h.

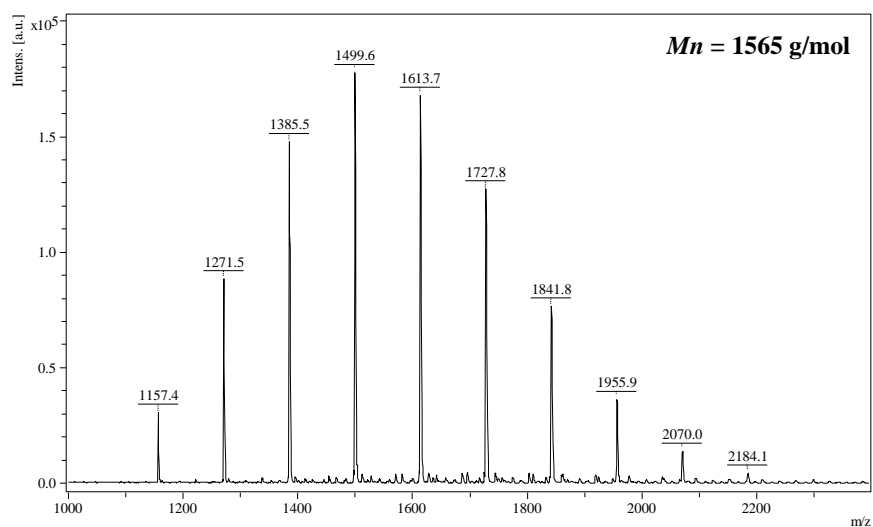
#### 4. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA STRUCTURALĂ AVANSATĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS A DERIVAȚILOR DE CICLODEXTRINĂ-OLIGOCAPROLACTONĂ

Derivații  $\beta$ -CDCL au fost obținuți utilizând reacția prin deschidere de ciclu a  $\epsilon$ -CL în prezența  $\beta$ -CD și a doi organocatalizatori (DMAP și (-)-sparteină; **Schema 4.1**).



**Schema 4.1.** Reacția prin deschidere de ciclu a  $\epsilon$ -CL inițiată de  $\beta$ -CD

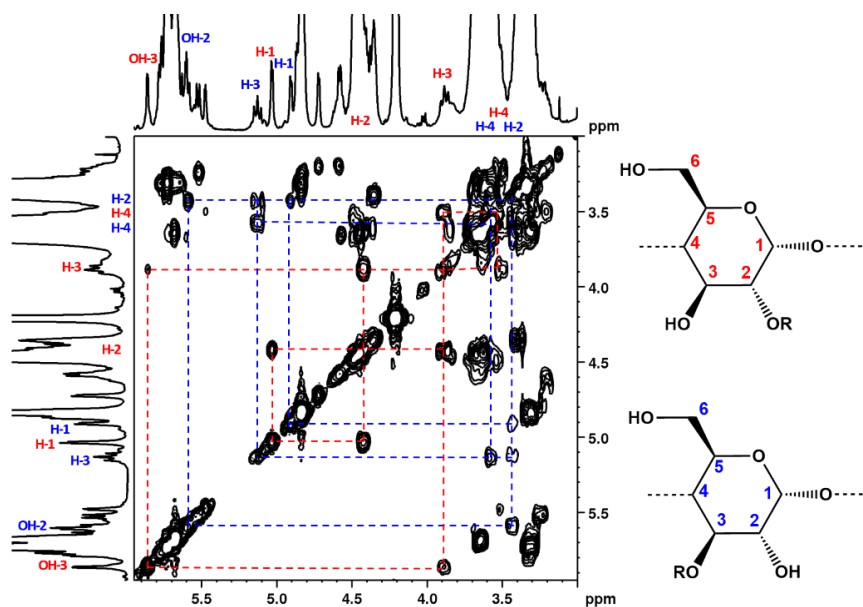
Spectrul de masă al unui produs  $\beta$ -CDCL tipic, obținut prin deschiderea ciclului  $\epsilon$ -CL în prezența  $\beta$ -CD și DMAP, folosind DMSO ca solvent, este prezentat în **Figura 4.1**. Se observă prezența unor serii de semnale situate la o distanță de 114 Da (corespunzătoare unităților monomere CL) pornind de la semnalul cu  $m/z$  1157, corespunzând aductului cu sodiu al  $\beta$ -CD. Confirmarea structurală a produșilor de tip  $\beta$ -CDCL a fost realizată prin studii de fragmentare de tip MS/MS.



**Figura 4.1.** Spectrul de masă MALDI MS al unui produs tipic  $\beta$ -CDCL#2

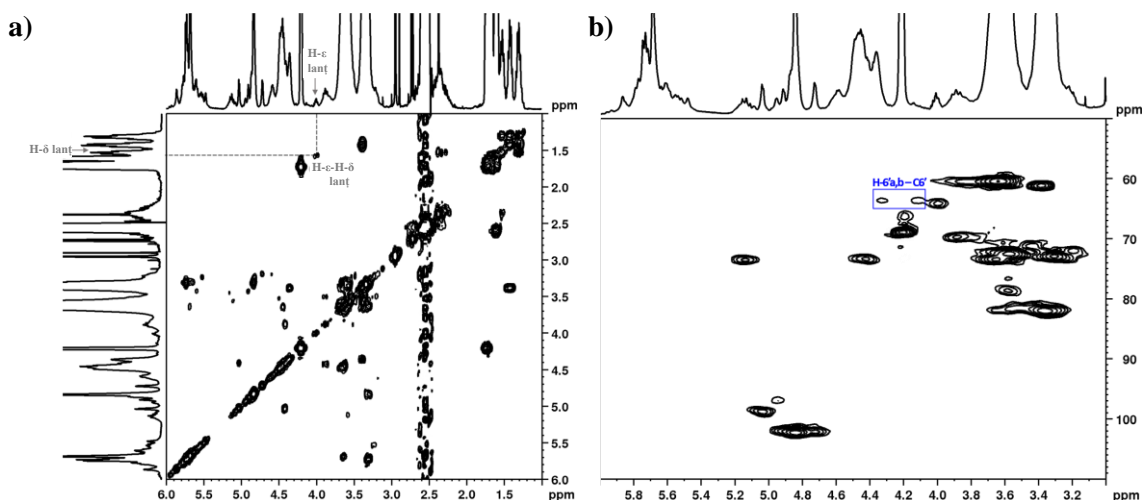
#### 4.2.2. Caracterizare prin RMN a derivaților $\beta$ -CDCL

Experimentul COSY a evidențiat semnalele pentru două unități de glucopiranoză ale  $\beta$ -CD, substituie diferite în pozițiile 3 și 2. Observarea acestui mod de substituție este deosebit de importantă din punct de vedere al mecanismului prin care are loc deschiderea ciclului de  $\epsilon$ -CL în prezența  $\beta$ -CD. Din punct de vedere analitic, pentru substituția la C2, semnalul H2 apare la 4,42 ppm și semnalul H3 corespunzător din vecinătate la 3,88 ppm (structura descrisă în **Figura 4.7**). În cazul substituției la C3, H3 apare la 5,13 ppm și H2 corespunzător la aproximativ 3,4 ppm.



**Figura 4.7.** Experimentul COSY (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) ce arată substituțiile la C2 (roșu) și C3 (albastru)

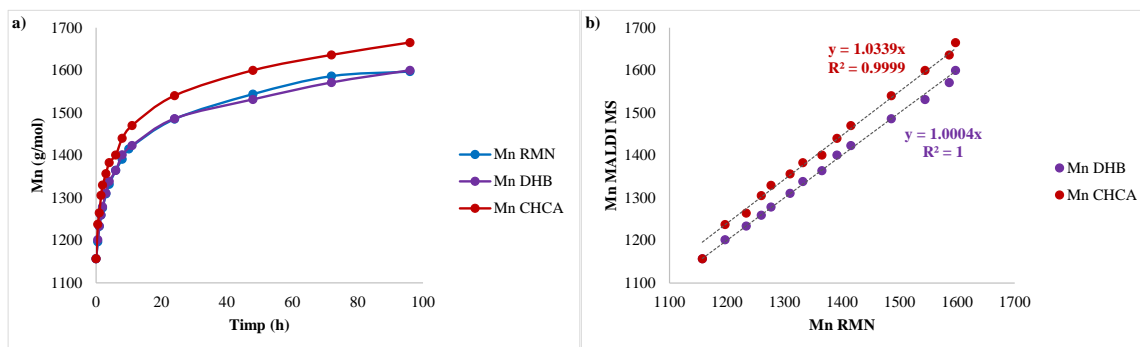
În spectrele  $^1\text{H}$  RMN pentru proba colectată după 6 h de reacție, semnalul corespunzător grupării metilen din poziția  $\epsilon$  a resturilor de CL începe să apară la 3,99 ppm. Chiar dacă acest semnal se suprapune parțial cu unul dintre sateliții semnalului pentru  $\text{CH}_2$ - $\epsilon$  ai  $\epsilon$ -CL nereacționate, prezența sa a putut fi confirmată prin experimentul COSY datorită cuplării sale cu  $\text{CH}_2$ - $\delta$  din lanț (**Figura 4.8a**). Mai mult, pentru proba colectată după 11 h, spectrul RMN a evidențiat semnalele corespunzătoare celor doi protoni H6' ai unităților glucopiranozice ale  $\beta$ -CD substituie la grupările hidroxil din poziția 6. Aceste semnale largi se suprapun parțial cu alte semnalele din spectrul RMN, dar prezența lor poate fi confirmată prin semnalele de corelație din spectrul HSQC cu C6' de la 63,2 ppm (**Figura 4.8b**). Astfel, se poate afirma că, după un anumit timp de reacție, substituția are loc și în poziția 6.



**Figura 4.8.** a) Spectru COSY (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) pentru proba  $\beta$ -CDCL colectată după 6 h și b) spectrul HSQC (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) pentru proba  $\beta$ -CDCL colectată după 11 h

#### 4.2.3. Cinetica reacției de obținere a $\beta$ -CDCL determinată prin spectrometrie de masă MALDI și RMN

Cinetica reacției prin deschidere de ciclu a  $\epsilon$ -CL folosind  $\beta$ -CD ca inițiator și DMAP ca organocatalizator (#2) a fost monitorizată atât prin spectrometrie de masă MALDI folosind DHB sau CHCA ca matrice pentru prepararea probelor, cât și prin spectroscopie  $^1\text{H}$  RMN pentru a confirma rezultatele obținute. Evoluția  $Mn_{\text{RMN}}$  și  $Mn_{\text{MALDI}}$  obținută folosind atât matricea DHB, cât și CHCA este prezentată în **Figura 4.10a**.



**Figura 4.10.** a) Evoluția valorilor  $Mn$  ale probelor  $\beta$ -CDCL<sub>#2</sub> determinată prin MALDI MS (utilizând DHB sau CHCA) și  $^1\text{H}$  RMN; b) corelația dintre evoluțiile valorilor  $Mn$  echivalente determinate prin  $^1\text{H}$  RMN și MALDI MS (utilizând DHB și CHCA)

Se observă un acord excelent între RMN și MALDI MS folosind DHB ca matrice, cu o evoluție similară a  $Mn$ , atingând 1600 g/mol la sfârșitul timpului de reacție, ceea ce corespunde la 3,85 unități monomere CL per moleculă de  $\beta$ -CD. Mai mult, graficul valorilor  $Mn$  determinate

prin MALDI MS folosind DHB și  $^1\text{H}$  RMN, a fost caracterizat de o evoluție liniară cu  $y = x$  și  $R^2 = 1$  (Figura 4.10b).

Un element important în evaluarea reacției de modificare a  $\beta$ -CD este și profilul vitezei de consum a monomerului. Astfel, s-au observat două regiuni evidente (Figura 4.10a): prima, de până la 12 h, a fost caracterizată printr-o conversie rapidă, 2,3 unități CL fiind atașate de  $\beta$ -CD în acest timp. Pentru a doua regiune de la 12 la 96 h, conversia a fost mult mai lentă, cu o creștere a  $M_n$  de doar 1,5 unități CL. În plus, analiza RMN a arătat că modul global de substituție al  $\beta$ -CD s-a schimbat pe parcursul reacției; în prima etapă, substituția a avut loc în pozițiile 2 și 3, în timp ce în a doua etapă s-a putut observa esterificarea și în poziția 6.

#### 4.2.5. Influența organocatalizatorilor în sinteza $\beta$ -CDCL determinată prin MALDI MS

Graficele cinetice ale reacțiilor catalizate de DMAP și (-)-sparteină au fost comparate cu sistemele de reacție fără catalizatori. Din studiul cinetic al reacției efectuate doar în DMSO putem observa o conversie redusă a  $\epsilon$ -CL,  $M_n$  atingând doar 1400 g/mol (Figura 4.16). În sistemul DMAP/DMSO, după o creștere inițială rapidă, valorile  $M_n$  cresc lent și continuu, ajungând la 1600 g/mol la sfârșitul timpului de reacție. Nici în sistemul de reacție cu (-)-sparteină, care este un activator nucleofil puternic, conversia nu a fost completă, observându-se o creștere rapidă a valorilor  $M_n$  până la 12 h. Aceasta regiune a fost urmată de plafonarea și chiar scăderea valorilor, din cauza degradărilor induse prin ciclizare.

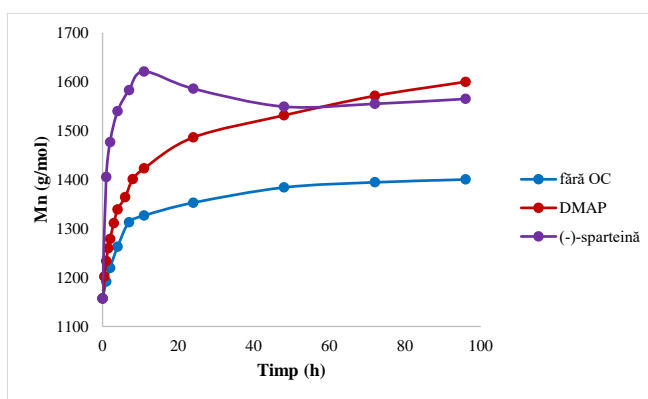
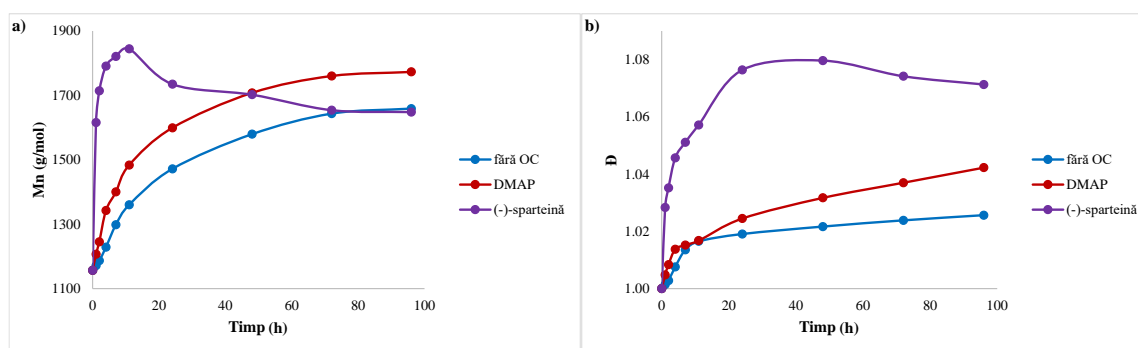


Figura 4.16. Influența organocatalizatorilor în DMSO asupra evoluției  $M_n$  (#1–3)

Analiza cinetică a reacțiilor din DMF a evidențiat un comportament similar (Figura 4.17a), cu aceeași ordine (-)-sparteină > DMAP > fără organocatalizator (#6, 5, 4). Cu toate acestea, observând comparativ evoluția valorilor  $M_n$ , se poate remarca faptul că sistemele de reacție realizate în DMF sunt în mod clar mai active decât cele din DMSO, cel mai probabil din



cauza proceselor de degradare ale DMF descrise anterior, care conduc la formarea activatorului nucleofil dimetilamină.



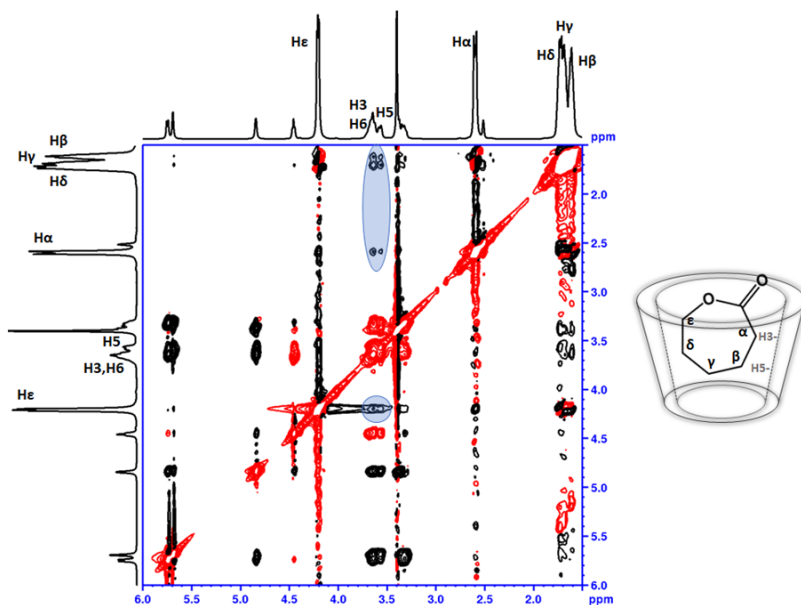
**Figura 4.17.** a) Influența organocatalizatorilor în DMF asupra evoluției  $M_n$  și b) evoluția indicelui de dispersitate (#4–6)

În plus, evoluția indicelui Đ determinat prin MALDI MS poate evidenția diferențele de reactivitate din sistem. Sistemul care conține (-)-sparteină a condus în 4 h la aceeași valoare a  $M_n$  ca și cel cu DMAP la sfârșitul timpului de reacție, dar dispersitatea obținută folosind DMAP a fost semnificativ mai mică (**Figura 4.17**).

## 5. MODIFICAREA CONTROLATĂ A CICLODEXTRINEI PRIN OLIGOMERIZAREA PRIN DESCHIDERE DE CICLU A $\epsilon$ -CAPROLACTONEI ÎN PREZENȚA ORGANOCATALIZATORILOR TBD ȘI DBU

Substituția direcționată către grupările hidroxil secundare ale moleculei de  $\beta$ -CD poate fi favorizată de fenomenele de incluziune și diferențele la nivelul reactivității grupărilor hidroxil în transesterificări. Încapsularea  $\epsilon$ -CL în cavitatea  $\beta$ -CD în DMSO a fost demonstrată de apariția semnalelor de corelație NOE între protonii din  $\epsilon$ -CL și protonii H3/H5 din cavitatea  $\beta$ -CD (**Figura 5.2**) atunci când monomerul a fost adăugat în exces conform condițiilor de reacție. Având în vedere studiile anterioare privind geometria complexilor  $\beta$ -CD: $\epsilon$ -CL formați în apă [47, 306], se poate presupune proximitatea spațială dintre funcțiunea carbonil a  $\epsilon$ -CL și baza mare a  $\beta$ -CD în DMSO, așa cum este ilustrat în **Figura 5.2**.

Procesul ROO al  $\epsilon$ -CL inițiat de  $\beta$ -CD a fost efectuat în DMSO, la 80 °C timp de 72 h. Spectrul de masă al produsului  $\beta$ -CDCL<sub>#1</sub> a permis cuantificarea  $M_n$  determinându-se o valoare de 1425 g/mol, corespunzătoare atașării a 2,35 unități CL la  $\beta$ -CD. Analiza <sup>1</sup>H RMN arată că numărul total de unități CL/ $\beta$ -CD este de 2,5, fiind în acord cu rezultatele MALDI MS. De asemenea, analiza RMN a  $\beta$ -CDCL<sub>#1</sub> a indicat substituția selectivă la baza mare.

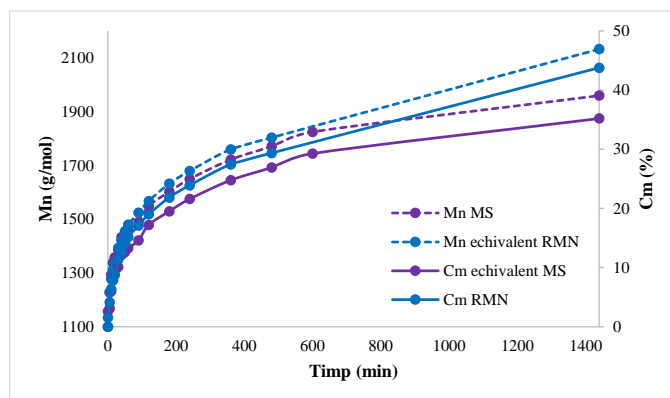


**Figura 5.2.** Spectrul ROESY (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) pentru un amestec  $\beta$ -CD/ $\epsilon$ -CL 1/20 care evidențiază semnalele de corelație NOE între H3/H5 din  $\beta$ -CD și protonii  $\epsilon$ -CL

### 5.2.3. Studii comparative $^1\text{H}$ RMN și MALDI MS pentru procesul ROO al $\epsilon$ -CL organocatalizat de DBU

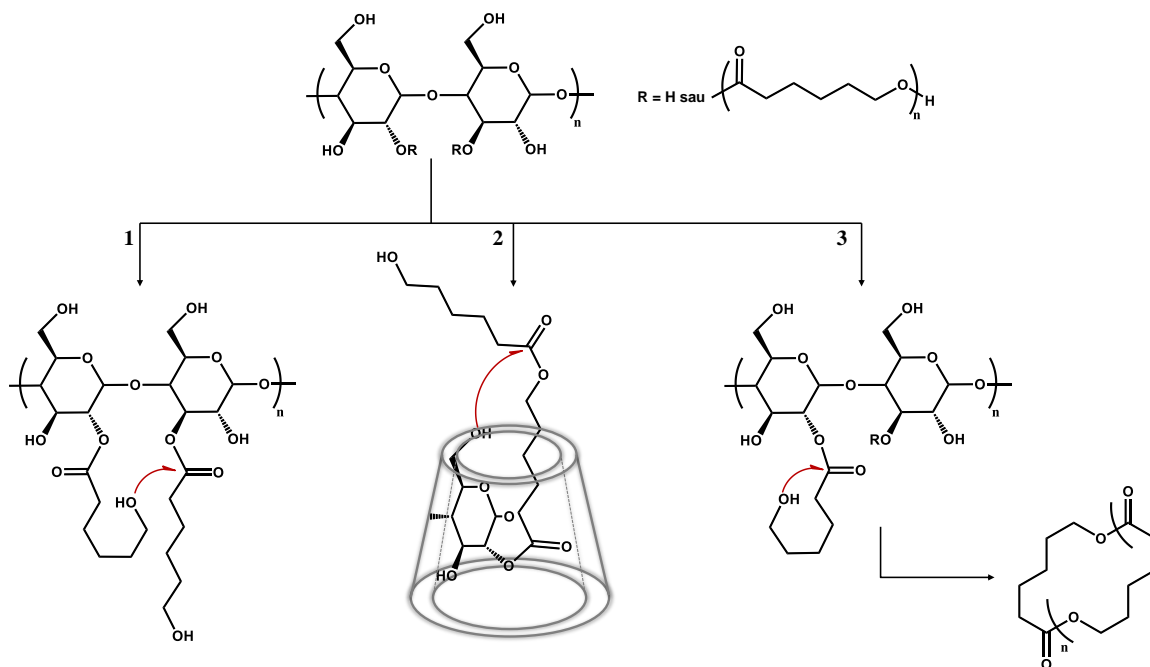
Progresul reacției prin deschidere de ciclu a  $\epsilon$ -CL în sistemul activat cu DBU, la temperatura camerei, în DMSO, a fost monitorizat utilizând analiza  $^1\text{H}$  RMN și MALDI MS (Figura 5.6.). Atât valorile  $M_n$  (MALDI MS), cât și de conversie (RMN) prezintă o tendință de creștere relativ similară pe parcursul reacției. Totuși, după 1440 de minute, măsurătorile RMN conduc la valori semnificativ mai mari. Diferența dintre valorile măsurate prin cele două metode poate fi explicată prin faptul că analiza MALDI MS reflectă doar unitățile CL atașate la  $\beta$ -CD (măsurătorile  $M_n$  iau în considerare doar semnalele pentru  $\beta$ -CDCL), în timp ce RMN măsoară cantitatea totală de OCL găsită în amestecul analizat ca specii  $\beta$ -CDCL și homopolimeri PCL. Ținând cont de diferențe s-a determinat că 7,45% din monomer este consumat prin reacții de transesterificare care conduc la formarea de homopolimeri PCL ciclici și liniari. Homopolimerii liniari apar ca o consecință a prezenței inevitabile a urmelor de apă atunci când sunt implicate moleculele de CD [335], în timp ce homopolimerii ciclici rezultă din reacții de ciclizare.

Spectrul de corelație  $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC RMN pentru produsul  $\beta$ -CDCL $_{\#2}$  (obținut după 30 min), a arătat acilarea bazei mari a  $\beta$ -CD, în condițiile unui SD relativ scăzut. Pe de altă parte, creșterea timpului de reacție la 24 h ( $\beta$ -CDCL $_{\#3}$ ) conduce la modificări suplimentare, crescând lungimea medie a lanțurilor, iar substituția având loc atât la baza mică, cât și la baza mare.



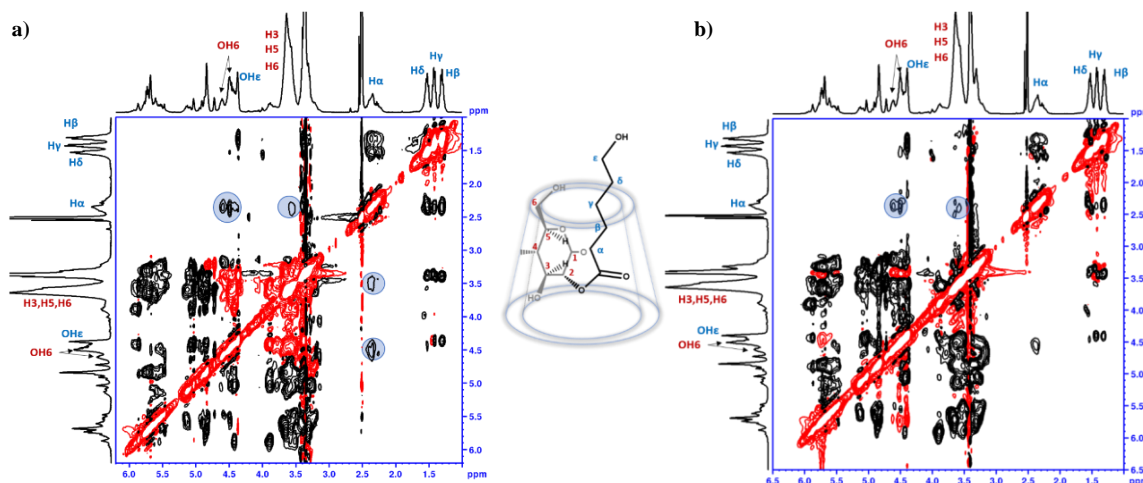
**Figura 5.6.** Evoluțiile Mn și Cm determinate prin MALDI MS și  $^1\text{H}$  RMN pentru reacția prin deschidere de ciclu a  $\epsilon$ -CL organocatalizată de DBU

Modul de substituție rezultat în urma reacției efectuate în prezență de DBU, poate fi explicat prin faptul că odată ce ciclul lactonei este deschis și legat în pozițiile 2 și/sau 3, grupările esterice atașate la  $\beta$ -CD pot suferi o serie de reacții de transesterificare de interschimb, după cum urmează: atacuri din partea grupărilor hidroxil de la capătul lanțului OCL care conduc la alungirea acestuia (**Schema 5.3** – calea 1); reacții de ciclizare (**Schema 5.3** – calea 3) care conduc la refacerea ciclului de  $\epsilon$ -CL; atacuri din partea grupărilor hidroxil primare ale  $\beta$ -CD care duc la transfer în poziția 6 (**Schema 5.3** – calea 2).



**Schema 5.3** Căile de transesterificare ale  $\beta$ -CDCL substituite în pozițiile 2 și 3: 1 – alungirea lanțului; 2 – schimburi C2,3/C6; 3 – ciclizare

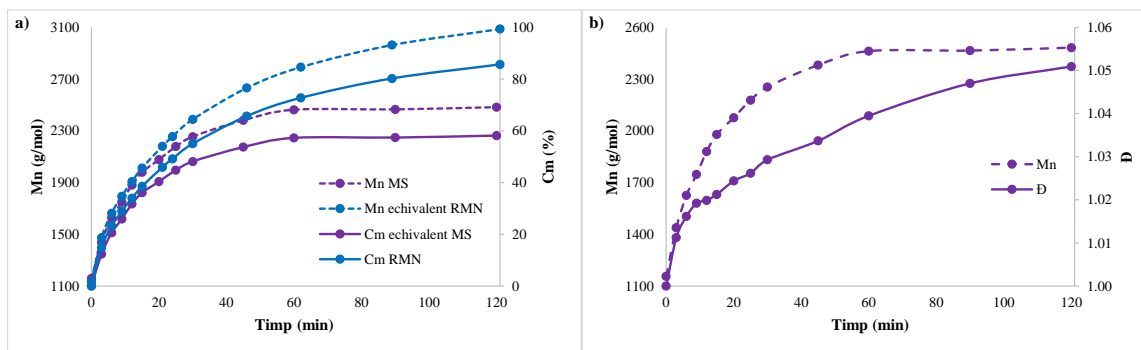
Transferul către grupările hidroxil din poziția 6 poate fi explicat de geometria produsului acilat în pozițiile 2 și 3, unitățile OCL fiind incluse în cavitate. Experimentele ROESY pentru produsul  $\beta$ -CDCL<sub>#2</sub> au evidențiat semnale de corelație NOE între H $\alpha$  din lanțurile OCL și H3/5 și OH6 din  $\beta$ -CD (Figura 5.12). Unitățile monomere atașate la baza mare sunt situate în cavitatea macrociclului, cu gruparea CH2 $\alpha$  în apropierea OH6 (mai puțin de 5Å).



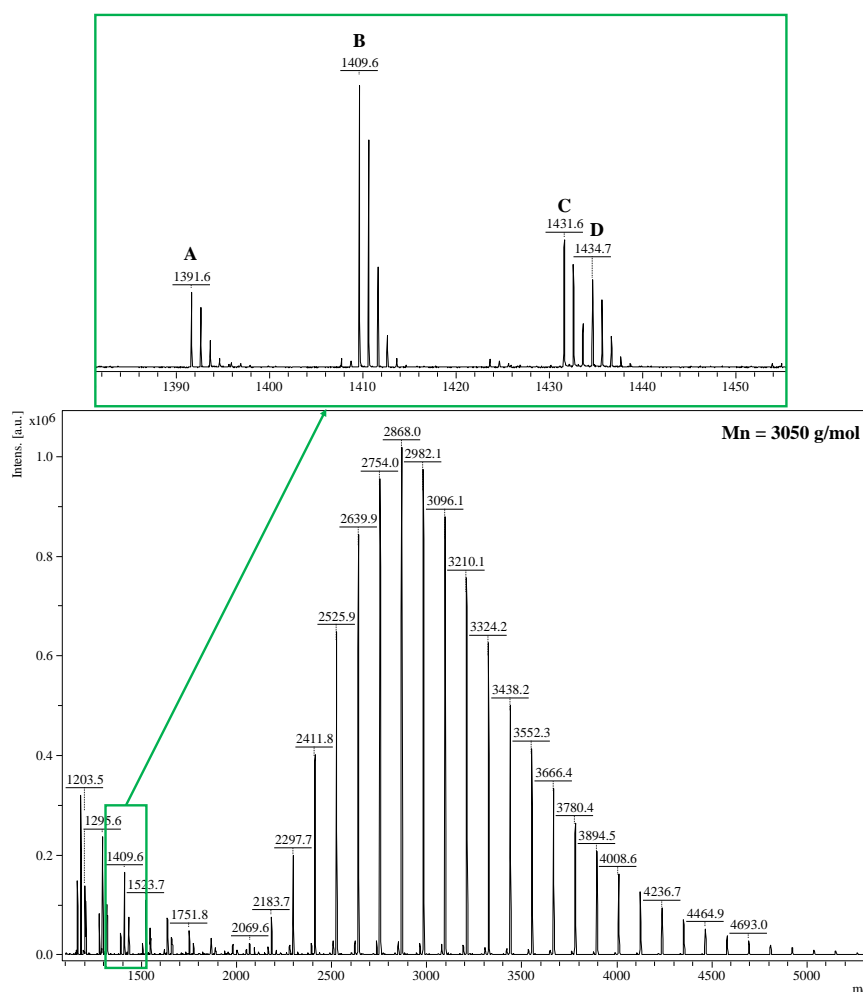
**Figura 5.12.** Spectrele ROESY ale produsului  $\beta$ -CDCL<sub>#2</sub> la: a) 10 mM și b) 40 mM în DMSO-d<sub>6</sub> evidențind semnalele de corelație NOE între OH6, H3 și H5 din  $\beta$ -CD și H $\alpha$  din OCL și o reprezentare schematică pentru autoincluziunea lanțurilor OCL în cavitatea  $\beta$ -CD

#### 5.2.4. Studii comparative <sup>1</sup>H RMN și MALDI MS pentru procesul ROO al $\epsilon$ -CL organocatalizat de TBD

Analizele MALDI MS și RMN au fost utilizate pentru a monitoriza modificările în procesul prin deschidere de ciclu al  $\epsilon$ -CL activat de TBD (Figura 5.13a). Reacția a prezentat o evoluție în două etape în ceea ce privește valorile *Mn* și conversiei  $\epsilon$ -CL. În primele 15 minute, ambele metode au dat rezultate comparabile, cu valori echivalente similare. De la 60 la 120 de minute, analiza MALDI MS a evidențiat o regiune de platou, în timp ce analiza RMN a arătat o creștere treptată a conversiei până la 85,65%, spre deosebire de conversia echivalentă de 58,15% determinată prin MS. Această diferență semnificativă poate fi atribuită unui consum de 27,5%  $\epsilon$ -CL în reacțiile secundare de transesterificare cu formare de homopolimeri PCL. În plus, creșterea continuă a  $\bar{M}_n$ , chiar și după încetarea creșterii valorilor *Mn*, oferă dovezi suplimentare pentru transesterificări (Figura 5.13b). Ținând cont de cinetica de reacție a procesului ROO inițiat de  $\beta$ -CD în prezență de TBD, au fost izolați trei produși de tip  $\beta$ -CDCL, după 10 min ( $\beta$ -CDCL<sub>#4</sub>), 60 min ( $\beta$ -CDCL<sub>#5</sub> – spectrul MALDI MS prezentat în Figura 5.14), respectiv 1440 min ( $\beta$ -CDCL<sub>#6</sub>), pentru a determina cu precizie modul de substituție.



**Figura 5.13.** a) Evoluțiile Mn și Cm determinate prin MALDI MS și  $^1\text{H}$  RMN pentru reacția prin deschidere de ciclu a  $\varepsilon\text{-CL}$  activată de TBD și b) Evoluțiile Mn și D determinate prin MALDI MS



**Figura 5.14** Spectrul MALDI MS al produsului  $\beta\text{-CDCL}_{\#5}$  cu populația de semnale principale corespunzătoare speciilor  $[\beta\text{-CDCL}+\text{Na}]^+$ ; regiunea evidențiată evidențiază seriile de semnale de homopolimeri PCL care însoțesc produsul principal  $\beta\text{-CDCL}$  (A – PCL ciclică, B – PCL liniară cu lanț terminal COOH, C – PCL liniară cu lanț terminal COONa și D – PCL liniară cu lanț terminal COO-TBD)

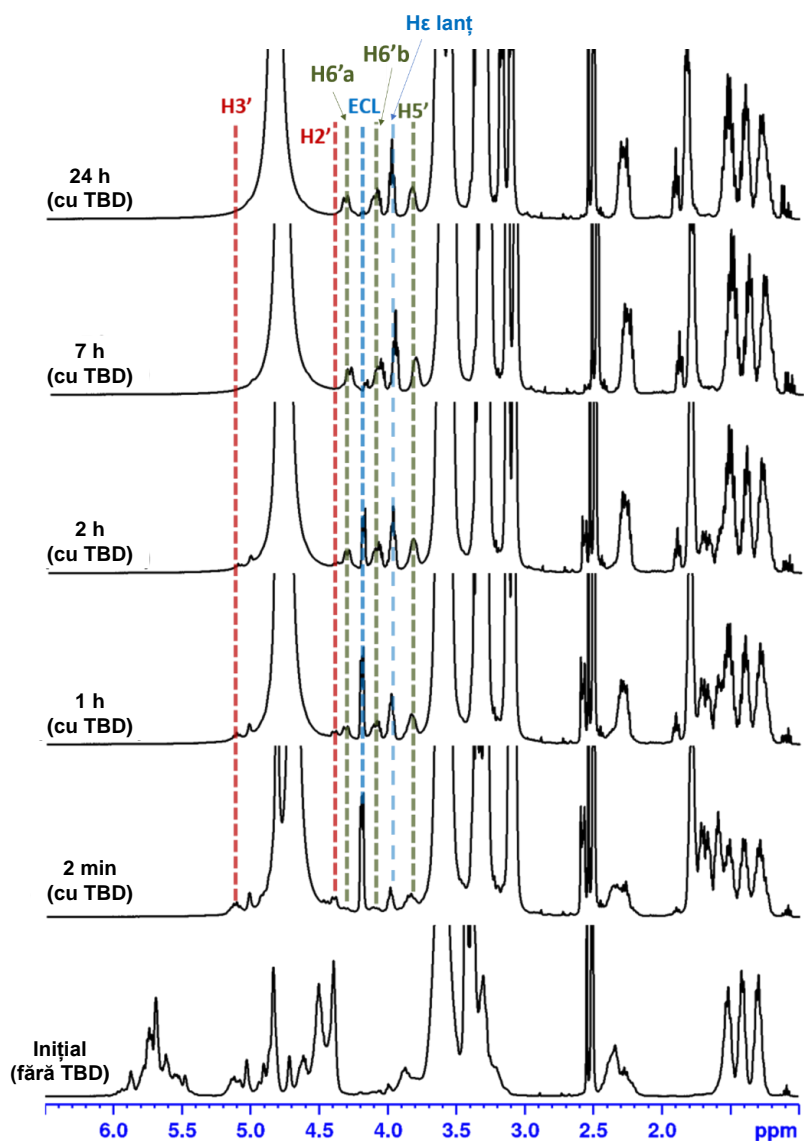
Produsul  $\beta$ -CDCL<sub>#4</sub> a prezentat o valoare de 6,35 unități CL/ $\beta$ -CD, așa cum este indicat de ambele metode de analiză, iar <sup>1</sup>H RMN a arătat un mod de substituție aleatoriu. După 60 min, a fost izolat un derivat  $\beta$ -CDCL<sub>#5</sub>, având o valoare a *Mn* de 3050 g/mol, ceea ce indică atașarea a 16,6 unități CL la molecula  $\beta$ -CD. De asemenea, spectrul de masă (**Figura 5.14**) confirmă prezența PCL ciclice (seria A) și PCL liniare (seriile B-D). Analiza RMN a acestui produs a arătat un mod de substituție aleatoriu în pozițiile 2, 3 și 6, atingând 15,42 unități CL/ $\beta$ -CD. Prezența homopolimerilor PCL liniari a fost confirmată și de semnalele corespunzătoare COOH.

Produsul  $\beta$ -CDCL<sub>#6</sub>, obținut după un timp de reacție de 24 h, marchează o nouă etapă în evoluția sistemului de reacție. Astfel, când se compară valorile *Mn* obținute prin MALDI MS a produșilor  $\beta$ -CDCL<sub>#5</sub> și  $\beta$ -CDCL<sub>#6</sub> se obține o valoare semnificativ mai mică pentru al doilea derivat (2575 g/mol), corespunzător atașării a 12,43 unități CL/ $\beta$ -CD. Valorile diminuate ale *Mn* pot fi corelate cu desprinderea lanțurilor oligoesterice prin reacții de transfer către moleculele de apă din sistem și ciclizare. Pe de altă parte, analiza RMN a produsului  $\beta$ -CDCL<sub>#6</sub> indică substituția exclusivă în poziția 6.

#### 5.2.5. Analiza reacțiilor de transfer din pozițiile 2 și 3 în 6

Pentru a reflecta cu acuratețe evoluția sistemului în timpul transferului de la 2,3 la 6, reacția a fost efectuată în tubul RMN (**Figura 5.22**). Spectrul <sup>1</sup>H RMN înregistrat imediat după adăugarea TBD arată semnale pentru un produs  $\beta$ -CDCL cu un grad de funcționalizare redus și semnale asociate cu  $\epsilon$ -CL ciclică formată *in situ*, indicând procese de ciclizare.

Analizând spectrele RMN colectate în timp se observă că intensificarea semnalelor H6'a, H6'b și H5' este însoțită de dispariția H2' și H3', ceea ce sugerează dispariția funcționalizării în 2,3 concomitent cu transferul funcțiunilor către poziția 6. De asemenea, scăderea continuă a cantității de  $\epsilon$ -CL indică consumarea monomerului printr-un proces ireversibil, diferit de procesul detectat inițial de acilare/deacilare. În plus, semnalul de 3,99 ppm corespunzător He din lanț crește constant, ceea ce arată alungirea lanțurilor grefate în poziția 6. Practic, la transformarea  $\beta$ -CDCL<sub>#2</sub> în  $\beta$ -CDCL<sub>#8</sub>, unitățile de monomer atașate în pozițiile 2 și 3 sunt transferate lent în poziția 6. După 7 h, substituția în poziția 6 este detectată aproape exclusiv, iar produsul  $\beta$ -CDCL<sub>#8</sub> (izolat după 24 h) are lanțuri mai lungi în comparație cu derivatul inițial, arătând că transferul din pozițiile 2,3 către 6 contribuie la alungirea lanțului.

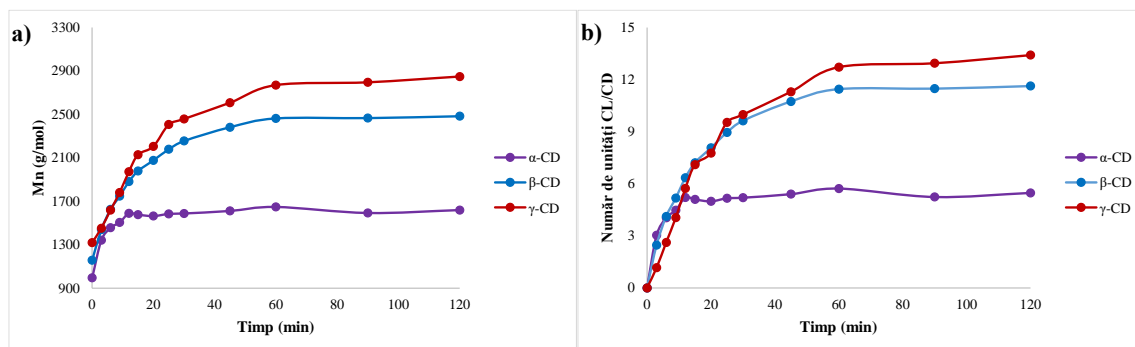


**Figura 5.22.** Spectrele  $^1\text{H}$  RMN care evidențiază evoluția transesterificării catalizate de TBD pentru produsul  $\beta\text{-CDCL}_{\#2}$

### 5.2.7. Influența cavității $\alpha$ -, $\beta$ -, sau $\gamma$ -CD în procesul ROO al $\epsilon\text{-CL}$ – cinetică MALDI MS

Reacția prin deschidere de ciclu a  $\epsilon\text{-CL}$  a fost monitorizată timp de 120 min pentru a determina influența  $\alpha$ -,  $\beta$ -, și  $\gamma$ -CD. Astfel, s-a urmărit evoluția valorilor  $Mn$ , respectiv a numărului mediu de unități CL/CD, obținute din cele trei sisteme (**Figura 5.29**). Datele comparative evidențiază că toate sistemele au o evoluție a valorilor  $Mn$  în două etape, foarte bine evidențiate pentru reacția inițiată de  $\alpha$ -CD. Sistemele cu  $\beta$ - și  $\gamma$ -CD au o reactivitate mai mare, ceea ce duce mai rapid la valori SD ridicate. Deși  $\gamma$ -CD conduce la un SD mai mare decât  $\beta$ -CD, valorile  $\bar{D}$  sunt semnificativ mai mari pentru sistemul inițiat de  $\beta$ -CD. Astfel, sistemul cu  $\alpha$ -CD a fost cel mai puțin reactiv datorită formării unui complex puternic cu monomerul [313],

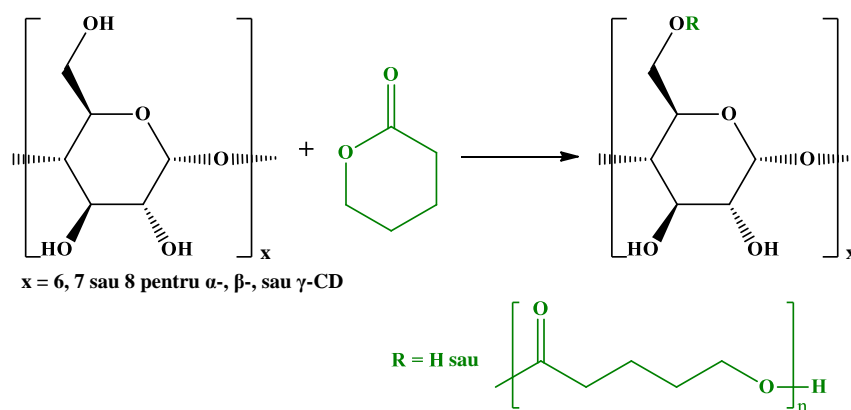
iar sistemul cu  $\beta$ -CD cel mai reactiv, așa cum s-a observat în studii anterioare [46-48]. Astfel, se poate afirma că fenomenele de complexare sunt implicate, cel puțin parțial, în procesul ROO al  $\varepsilon$ -CL în DMSO.



**Figura 5.29.** Evoluția a) valorilor  $M_n$  și b) numărului mediu de unități CL/CD pentru ROO a  $\varepsilon$ -CL inițiate de  $\alpha$ -,  $\beta$ -, și  $\gamma$ -CD în prezență de TBD

## 6. MONITORIZAREA REACȚIILOR DE OBTINERE A DERIVAȚILOR CICLODEXTRINĂ-OLIGOVALEROLACTONĂ PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ MALDI MS

Derivații de tip  $\beta$ -CDVL sunt preparați prin procesul ROO al  $\delta$ -VL inițiat de  $\beta$ -CD în soluție (DMSO) conform **Schemei 6.1**. Pentru înțelegerea particularităților reacțiilor și determinarea condițiilor optime au fost efectuate o serie de reacții, supuse caracterizării prin MALDI MS, RMN și MS/MS.



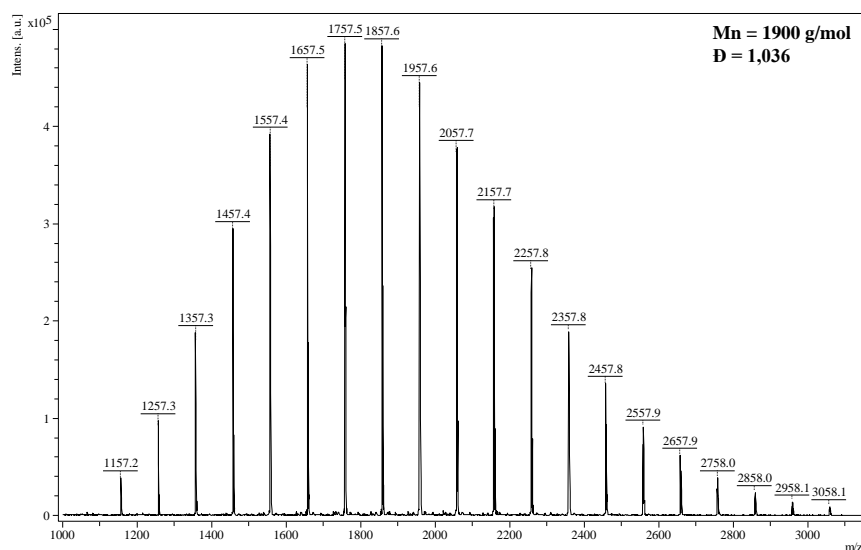
**Schema 6.1.** Reacția prin deschidere de ciclu a  $\delta$ -VL inițiată de  $\beta$ -CD

### 6.2.1. Caracterizarea produșilor de tip $\beta$ -CDVL prin MALDI MS și RMN

Spectrul de masă al unui produs  $\beta$ -CDVL tipic prezintă o serie de semnale la o diferență de 100 Da (masa moleculară a unității monomere 5-oxipentanoat, notată VL) pornind de la aductul cu sodiu al  $\beta$ -CD (**Figura 6.1**). Pentru a confirma structura derivaților  $\beta$ -CDVL, au fost



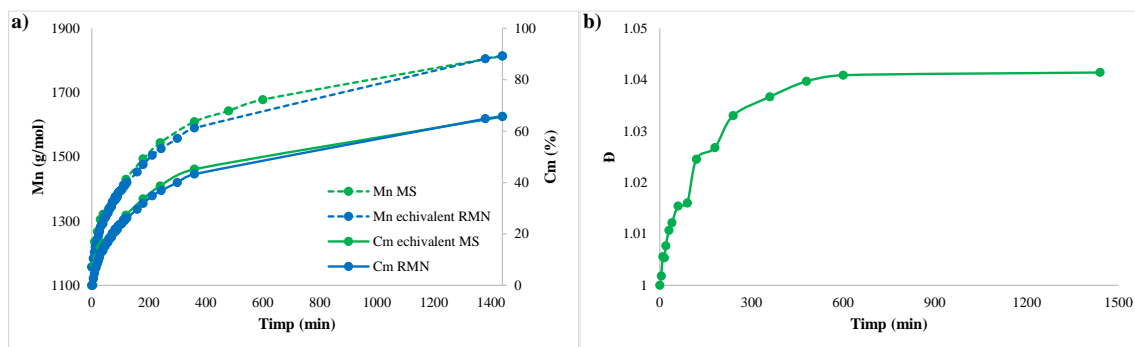
folosite și studii de fragmentare MS/MS. Analiza RMN arată, de asemenea, faptul că derivatul  $\beta$ -CDVL este substituit la grupările hidroxil primare ale  $\beta$ -CD.



**Figura 6.1.** Spectrul MALDI MS al  $\beta$ -CDVL#3

### 6.2.2. Reacția prin deschidere de ciclu a $\delta$ -VL inițiată de $\beta$ -CD

Evoluția procesului ROO activat de DBU a monomerului  $\delta$ -VL inițiată de  $\beta$ -CD a fost determinată atât prin MALDI MS, cât și prin RMN (**Figura 6.6a**). Evoluția  $M_n$  determinată direct din MALDI MS, și indirect, din RMN utilizând conversia monomerului este similară, conducând la aceleași valori la sfârșitul timpului de reacție.

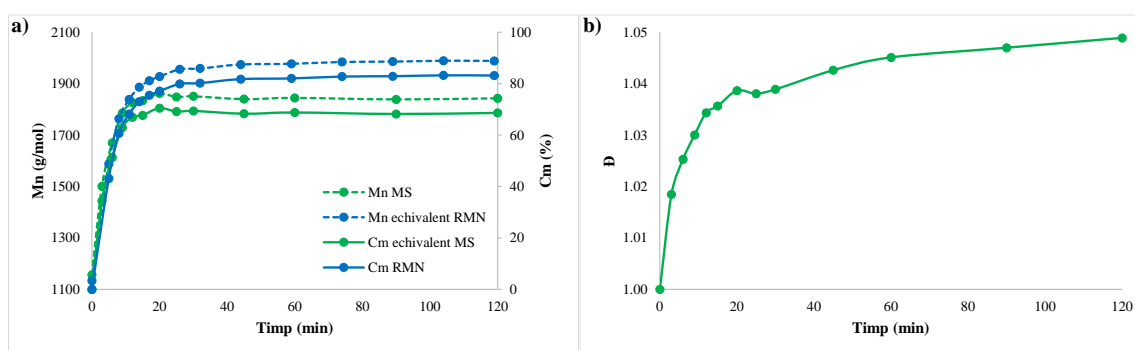


**Figura 6.6.** Evoluția a)  $M_n$  (determinată prin MALDI MS și RMN) și b)  $\bar{D}$  (determinată din MALDI MS) în procesul ROO al  $\delta$ -VL activat de organocatalizatorul DBU

Pentru primele 360 de minute, reacția are o viteză de creștere a  $M_n$  mai mare, dar ulterior, aceasta încetinește. Reducerea reactivității poate fi atribuită modificării structurii  $\beta$ -CD și implicit împiedicărilor sterice la nivelul situsurilor reactive ale  $\beta$ -CD. Valorile  $\bar{D}$  cresc semnificativ pentru cea mai mare parte a timpului de reacție (**Figura 6.6b**), iar spectrul MALDI

MS al produsului obținut după 1440 min a arătat prezența homopolimerilor PVL liniari rezultați din cauza urmelor de apă din mediul de reacție în regiunea 500-1100 Da. Surprinzător, analiza RMN a spectrelor înregistrate pentru stabilirea evoluției procesului ROO al  $\delta$ -VL relevă faptul că substituția are loc la grupările hidroxil primare chiar de la începutul reacției.

Reacția catalizată de DBU a permis atingerea unei conversii moderate a  $\delta$ -VL, astfel că a fost investigat progresul reacției și în prezența unei bazei nucleofile mai puternice, TBD (**Figura 6.10a**). Evoluția sistemului de reacție în ceea ce privește valorile  $Mn$  (monitorizată prin MALDI MS) a arătat o creștere rapidă în primele 15 min; după această creștere inițială, sistemul de reacție ajunge la o regiune de platou. Deși valorile  $Mn$  rămân relativ constante, valorile  $\bar{D}$  continuă să crească (**Figura 6.10b**) confirmând incidența reacțiilor de transesterificare.



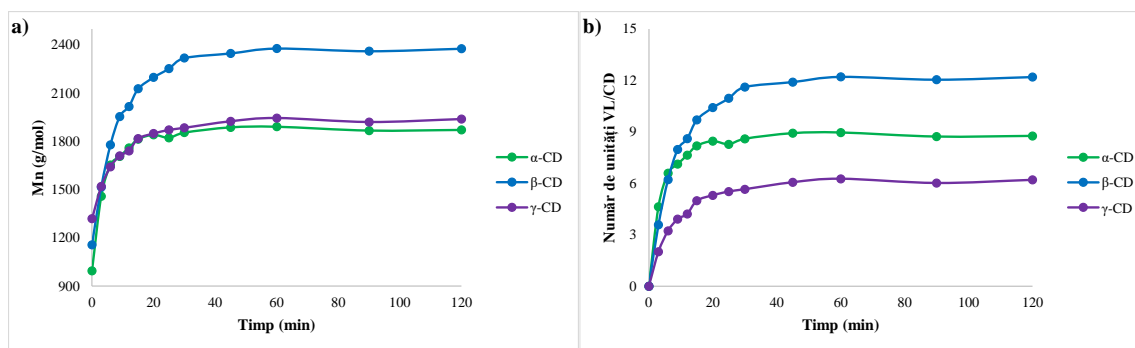
**Figura 6.10** Evoluția a)  $Mn$  (determinată prin MALDI MS și RMN) și b)  $\bar{D}$  (determinată din MALDI MS) în procesul ROO al  $\delta$ -VL activat de organocatalizatorul TBD

Progresul reacției urmărit prin RMN, pe baza  $Cm$  transformată în  $Mn$  echivalentă, conduce după 15 min la valori mai ridicate decât cele determinate prin MALDI MS. Cu toate acestea, profilul curbelor cinetice este similar, atingând un platou până la sfârșitul reacției, indicând că echilibrul ROO în condițiile date a fost atins. De asemenea, diferențele privind valorile determinate prin cele două tehnici de analiză semnalează că 14,35% din monomer este convertit în homopolimeri. Similar cu cazul anterior, analiza RMN arată că substituția are loc, de la începutul reacției, la grupările hidroxil primare datorită reactivității crescute a sistemului, care nu permite observarea substituției la baza mare.

### 6.2.3. Influența cavității $\alpha$ -, $\beta$ -, sau $\gamma$ -CD asupra procesului ROO al $\delta$ -VL

Reacțiile inițiate de  $\alpha$ -,  $\beta$ -, și  $\gamma$ -CD au fost monitorizate timp de 120 min pentru a determina evoluția valorilor  $Mn$  (**Figura 6.14a**), respectiv a numărului de unități VL atașate de CD pentru o diferențiere mai clară a celor trei sisteme (**Figura 6.14b**). Evoluția în două etape, clar

diferențiate, poate fi o consecință a reactivității crescute în etapa inițială a reacției datorită utilizării organocatalizatorului TBD și concentrației ridicate de specii hidroxil active cu rol de inițiator. Totuși, conversia maximă teoretică nu este atinsă în niciunul dintre cazurile studiate probabil din cauza atingerii unei stări de echilibru în reacția reversibilă de atașare/detașare a  $\delta$ -VL la CD.



**Figura 6.14.** Evoluția a) valorilor Mn și b) numărului de unități VL/CD pentru procesele ROO ale  $\delta$ -VL inițiate de  $\alpha$ -,  $\beta$ -, și  $\gamma$ -CD în prezență de TBD

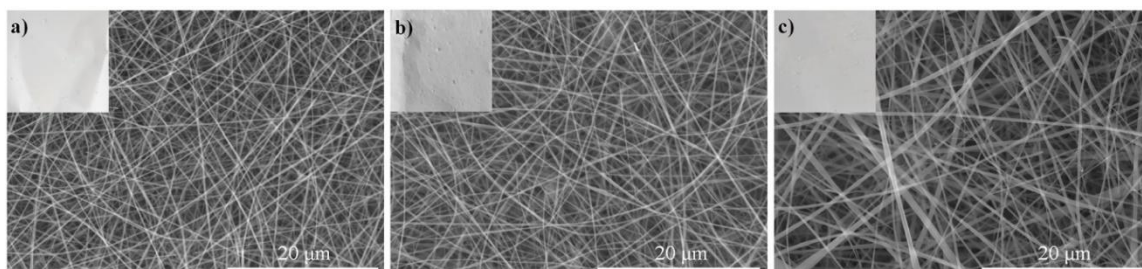
Dacă se ia în considerare doar creșterea masei, se pare că sistemul inițiat de  $\alpha$ -CD este similar cu cel implicând  $\gamma$ -CD. În schimb, SD este mai ridicat în cazul  $\alpha$ -CDVL, atașându-se 8,2 unități în primele 15 min. În cazul reacției inițiate de  $\gamma$ -CD reacția decurge rapid pentru 15 min în care se atașează 5 unități VL/ $\gamma$ -CD, iar după aceasta urmează o perioadă de creștere foarte lentă (**Figura 6.14b**). Luând în considerare dimensiunea mai mare a cavității  $\gamma$ -CD, respectiv imobilizarea inefficientă a lactonei în cavitatea acesteia [313], se poate presupune că reactivitatea mai scăzută este rezultatul unui proces inefficient de complexare/activare a  $\delta$ -VL. Cele mai bune rezultate se obțin în cazul  $\beta$ -CD, așa cum s-a observat în studii anterioare [46-48].

## 7. ELECTROFILAREA CICLODEXTRINELOR MODIFICATE CU OLIGOESTERI

### 7.1. Electofilarea derivați $\alpha$ -, $\beta$ - și $\gamma$ -CDLA

Pe baza rezultatelor privind electrofilarea  $\beta$ -CDLA în apă/acetonitril [42], s-a ales ca punct de plecare concentrația de 160% m/v pentru prepararea nanofibrelor pe bază de  $\alpha$ - și  $\gamma$ -CDLA. Astfel, pentru concentrații de 160% m/v, s-au obținut fibre pentru  $\gamma$ -CDLA, dar în cazul  $\alpha$ -CDLA a fost necesară creșterea suplimentară a concentrației de  $\alpha$ -CDLA până la 200% m/v pentru formarea de fibre fără particule (**Figura 7.5**). Diametrul mediu al nanofibrelor pe bază de  $\alpha$ - și  $\beta$ -CDLA este relativ similar,  $333 \pm 52$  nm, respectiv  $378 \pm 68$  nm. Diametrul mai mare în cazul

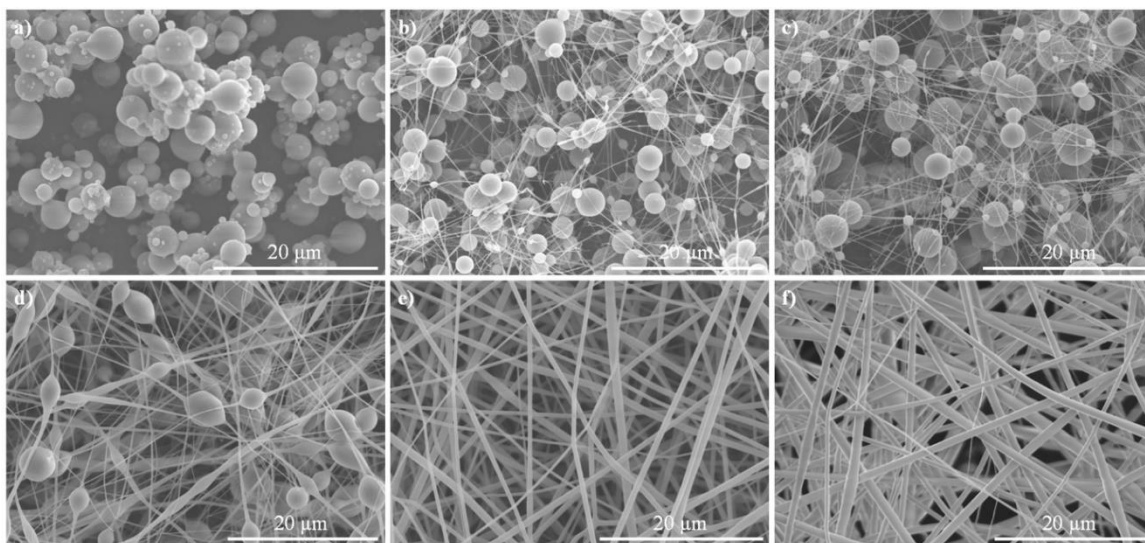
nanofibrelor  $\gamma$ -CDLA ( $468 \pm 130$  nm) poate fi explicat prin viscozitatea mai mare a soluției  $\gamma$ -CDLA ( $0,818$  Pa·s) față de  $\sim 0,6$  Pa·s în cazul celorlalți derivați.



**Figura 7.5.** Imagini SEM ale nanofibrelor pe bază de: a)  $\alpha$ -CDLA (200% m/v), b)  $\beta$ -CDLA (160% m/v) și c)  $\gamma$ -CDLA (160% m/v)

### 7.2.2. Procesul de electrofilare al derivaților $\beta$ -CDVL și $\beta$ -CDCL

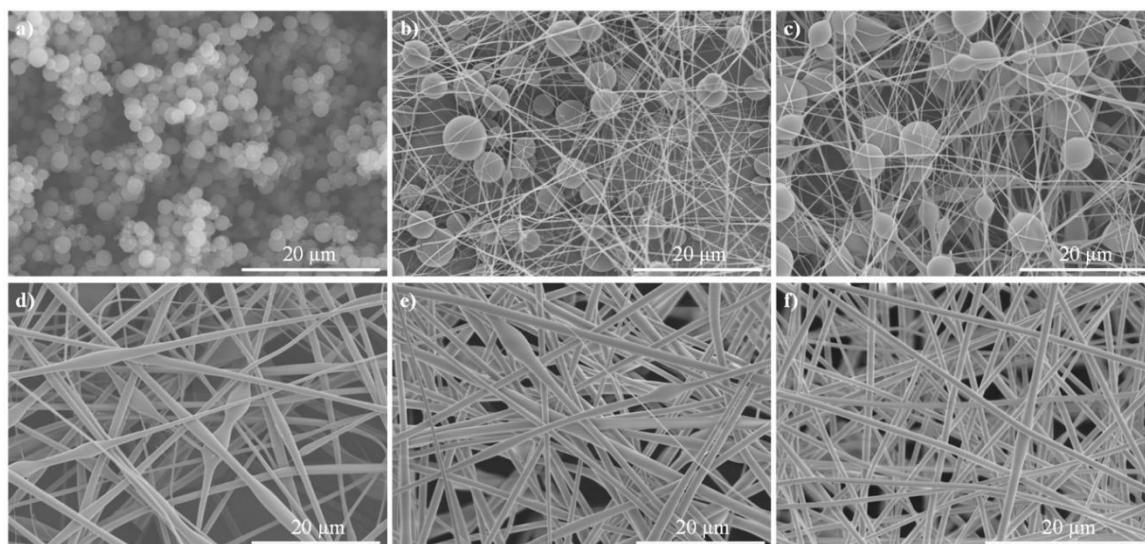
În procesul de electrofilare, trecerea de la particule la fibre cu particule și, în cele din urmă, la fibre fără particule are loc odată cu creșterea concentrației și/sau viscozității soluției de plecare [228]. Varierea intervalului de concentrație 110-200% m/v (**Figura 7.9**) evidențiază tendința de formare a fibrelor. Dacă la 110% se remarcă formarea unor particule (**Figura 7.9a**), valori mai ridicate ale concentrației conduc la formarea concomitentă de fibre și particule (**Figura 7.9b-d**). Creșterea concentrației la 190%, respectiv 200% m/v a condus la obținerea de fibre (fără particule) cu diametre medii de  $632 \pm 188$  nm, respectiv  $862 \pm 311$  nm (**Figura 7.9e,f**).



**Figura 7.9.** Imagini SEM pentru sistemele  $\beta$ -CDCL la: a) 110% m/v, b) 130% m/v, c) 150% m/v, d) 170% m/v, e) 190% m/v și f) 200% m/v

Pornind de la rezultatele obținute în procesul de electrofilare a derivaților de  $\beta$ -CDLA [42] și  $\beta$ -CDCL, concentrația soluției de  $\beta$ -CDVL testată inițial a fost de 150% m/v. La această

concentrație, derivații  $\beta$ -CDVL au condus la formarea particulelor (**Figura 7.11a**), indicând necesitatea creșterii concentrației pentru a se atinge nivelul de coeziune prin legături de hidrogen necesar obținerii fibrelor. Prin urmare, concentrația a fost crescută până la 210% m/v, ceea ce a condus la fibre cu câteva particule alungite, fibrele având un diametru mediu de  $1098 \pm 477$  nm (**Figura 7.11d**). Concentrația a fost mărită la 220% m/v pentru a reduce prezența particulelor (**Figura 7.11e**). Diametrul mediu al fibrelor rezultat a fost destul de mare ( $1108 \pm 312$  nm), iar pentru a-l reduce, s-a mărit distanța ac-colector pentru electrofilarea soluției de 220% m/v, obținându-se diametre de  $629 \pm 123$  nm (**Figura 7.11f**).

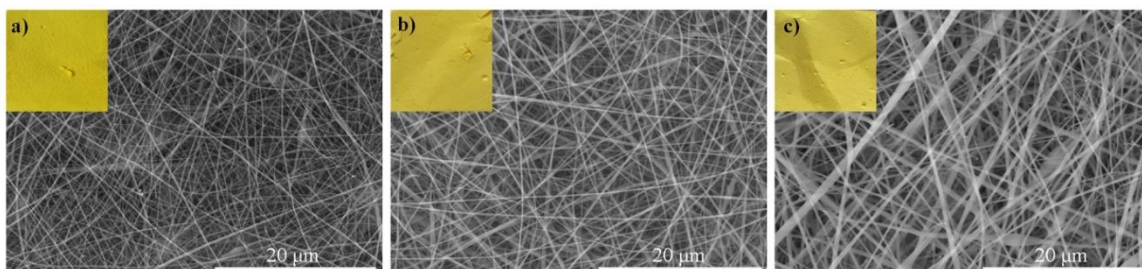


**Figura 7.11.** Imagini SEM pentru sistemele  $\beta$ -CDVL la: a) 150% m/v, b) 170% m/v, c) 190% m/v, d) 210% m/v, e) 220% m/v la 15 cm, f) 220% m/v la 18 cm distanță ac-colector

### 7.3. Electrofilarea derivaților ciclodextrină-oligolactidă cu compuși bioactivi

#### 7.3.1. Nanofibre cu curcumină

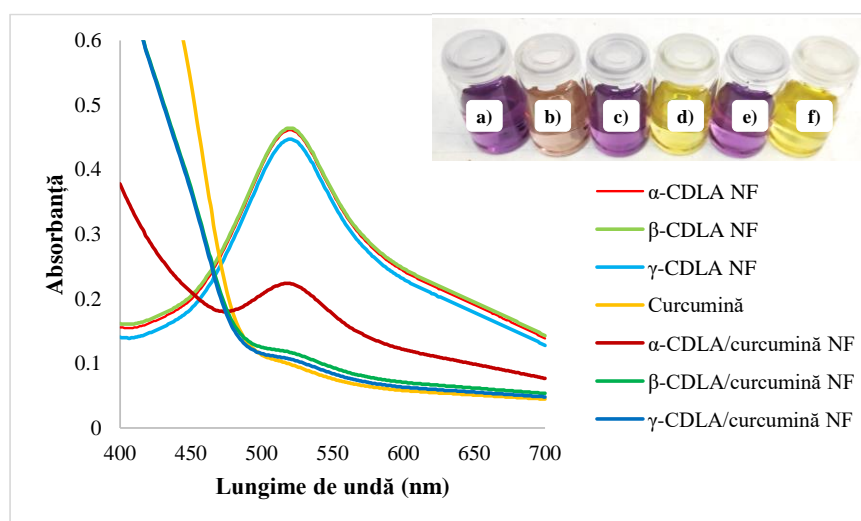
Creșterea concentrației soluției de  $\beta$ -CDLA la 180% m/v (pentru un raport molar de 4/1  $\beta$ -CDLA/CRC), a condus la obținerea de nanofibre, cu diametrul de  $302 \pm 55$  nm (**Figura 7.14b**). Sistemul  $\gamma$ -CDLA/CRC a condus la nanofibre în aceleași condiții ca și  $\beta$ -CDLA/CRC, având un diametru mediu de  $408 \pm 104$  nm (**Figura 7.14c**). Pe de altă parte, a fost necesară o concentrație mai ridicată pentru a obține nanofibre din sistemul  $\alpha$ -CDLA cu CRC (220% m/v  $\alpha$ -CDLA pentru un raport molar  $\alpha$ -CDLA/CRC de 4/1). Imaginea SEM (**Figura 7.14a**) dezvăluie formarea de nanofibre din amestecul  $\alpha$ -CDLA/CRC cu un diametru mediu de  $264 \pm 44$  nm.



**Figura 7.14.** Imagini SEM pentru a)  $\alpha$ -CDLA/CRC (220% m/v), b)  $\beta$ -CDLA/CRC (180% m/v) și c)  $\gamma$ -CDLA/CRC (180% m/v)

### 7.3.1.3. Activitatea antioxidantă a nanofibrelor $\alpha$ -, $\beta$ -, și $\gamma$ -CDLA/curcumină

Nanofibrele  $\beta$ - și  $\gamma$ -CDLA încărcate cu CRC au prezentat performanțe aproximativ similare (74,3 % vs. 75,5% activitate antioxidantă), cu o îmbunătățire minoră observată pentru nanofibrele  $\gamma$ -CDLA, aproape similară cu conținutul teoretic al CRC (**Figura 7.26**). Cu toate acestea, nanofibrele  $\alpha$ -CDLA au arătat o performanță semnificativ mai scăzută (51,3% activitate antioxidantă), probabil din cauza capacității reduse de solubilizare a CRC în soluții apoase. Această observație vine în acord cu analizele DTG și FTIR, care au arătat interacțiuni de tip gazdă-oaspete mai puțin eficiente pentru nanofibrele  $\alpha$ -CDLA/CRC.

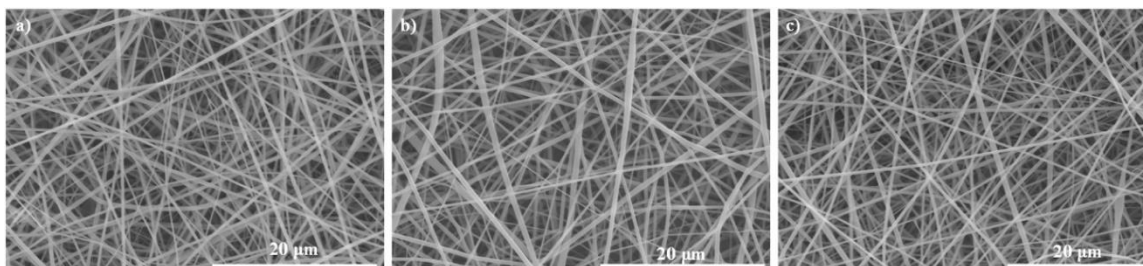


**Figura 7.26.** Spectrele UV-Vis ale soluțiilor de probă care arată performanța testului antioxidant cu DPPH a nanofibrelor (NF)  $\alpha$ -,  $\beta$ - și  $\gamma$ -CDLA simple și încărcate cu CRC

### 7.3.2. Nanofibre cu magnolol și honokiol

Nanofibrele pe bază de  $\beta$ -CDLA și MG, respectiv HK, au fost preparate utilizând soluții de 180% m/v  $\beta$ -CDLA în amestec apă/acetonitril (1/1 raport volumic) și un raport molar  $\beta$ -CDLA/compus bioactiv de 1/1, conținutul masic de compus bioactiv fiind de aproximativ 7%.

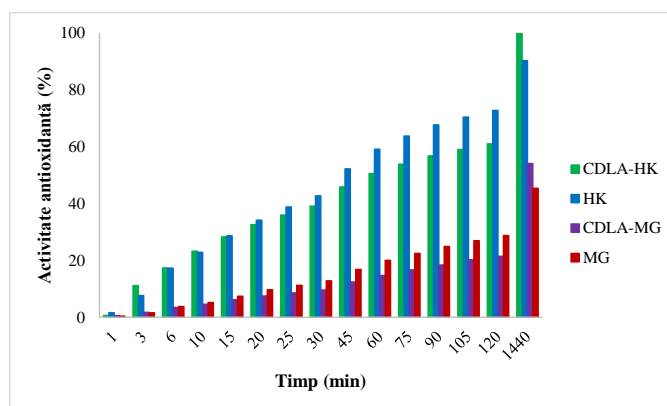
În aceste condiții, procesul de electrofilare al soluției  $\beta$ -CDLA/MG a condus la fibre cu diametre de  $416 \pm 125$  nm (**Figura 7.27b**), iar pentru sistemul  $\beta$ -CDLA/HK, s-au obținut fibre cu diametre de  $446 \pm 111$  nm (**Figura 7.27c**). De asemenea, au fost preparate și fibre de  $\beta$ -CDLA, fără adăugare de compus activ, obținându-se astfel diametre de  $374 \pm 115$  nm (**Figura 7.27a**).



**Figura 7.27.** Imagini SEM pentru a)  $\beta$ -CDLA, b)  $\beta$ -CDLA/MG, c)  $\beta$ -CDLA/HK la concentrația 180% m/v

### 7.3.2.3. Activitatea antioxidantă a nanofibrelor $\beta$ -CDLA cu magnolol și honokiol

În acest studiu, se urmărește investigarea activității antioxidante a formulărilor de tip nanofibre  $\beta$ -CDLA/MG,  $\beta$ -CDLA/HK (**Figura 7.33**). Pe o perioadă de 120 min, HK și MG au valori mai ridicate pentru activitățile antioxidante decât formulările  $\beta$ -CDLA/compus bioactiv. Acest fapt ar putea fi atribuit interacțiunii compușilor bioactivi cu derivații  $\beta$ -CDLA care poate îngreuna donarea H către radicalii DPPH din cauza unor împiedicări sterice.

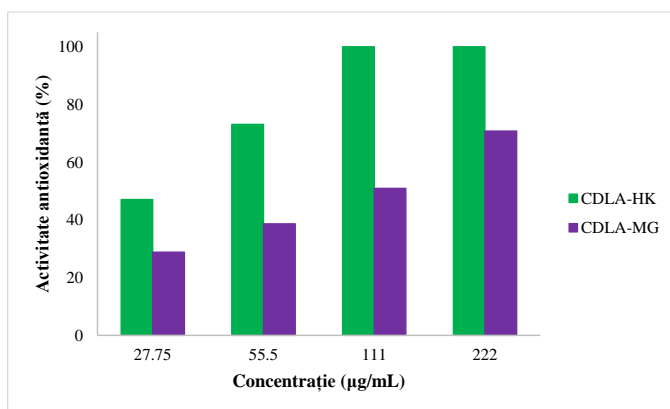


**Figura 7.33.** Evoluția activității antioxidante a formulărilor  $\beta$ -CDLA/HK,  $\beta$ -CDLA/MG și a compușilor HK, respectiv MG

Cu toate acestea, după 1440 min, valorile activității antioxidante sunt mai ridicate în cazul formulărilor electrofilate. În ciuda cineticii inițiale lente de reducere a radicalilor DPPH, formularea  $\beta$ -CDLA/HK ajunge la valoarea maximă. Similar, formularea  $\beta$ -CDLA/MG are o valoarea a activității antioxidante puțin mai ridicată decât MG. Așadar, interacțiunile dintre

compușii bioactivi și derivații  $\beta$ -CDLA pot contribui la îmbunătățirea activității antioxidante în timp.

Pentru formulările de tip nanofibre  $\beta$ -CDLA/HK, respectiv MG, s-a studiat și activitatea antioxidantă în funcție de concentrație, în domeniul 27,75-222  $\mu\text{g/mL}$ , după 1440 min (**Figura 7.34**). Pe baza acestor teste efectuate în etanol, se poate determina concentrația eficientă medie ( $\text{EC}_{50}$ ). Astfel, aceasta are o valoare de 31  $\mu\text{g/mL}$  pentru formulările  $\beta$ -CDLA/HK și de 106  $\mu\text{g/mL}$  pentru  $\beta$ -CDLA/MG. Valoarea  $\text{EC}_{50}$  mai scăzută indică o capacitate mai mare de captare a radicalilor liberi în formulările  $\beta$ -CDLA/HK, confirmând că HK prezintă o activitate antioxidantă semnificativ mai mare în comparație cu MG.

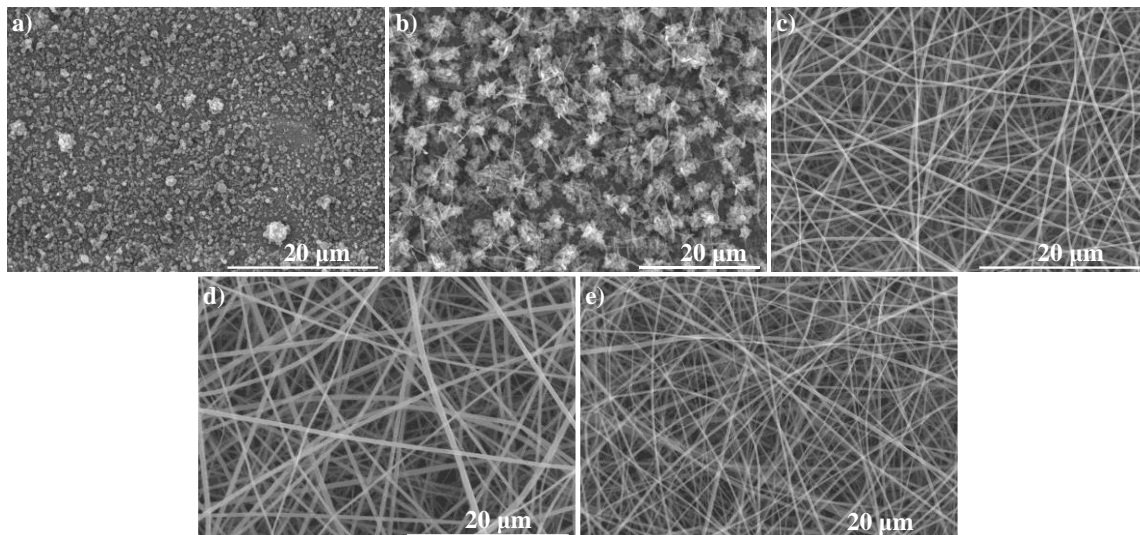


**Figura 7.34.** Activitatea antioxidantă a formulărilor de tip nanofibre  $\beta$ -CDLA/HK și  $\beta$ -CDLA/MG în funcție de concentrație

### 7.3.3. Nanofibre cu enrofloxacină

Pentru electrofilarea conjugatelor  $\beta$ -CDLA cu ENR au fost utilizate soluții concentrate, preparate în amestec apă/acetonitril (1/1 raport volumic). Pe baza rezultatelor anterioare legate de electrofilarea derivaților  $\beta$ -CDLA cu MG și HK, s-a încercat inițial o soluție de 180% m/v la care s-a adăugat o cantitate de principiu activ corespunzătoare unui raport molar de 1/1  $\beta$ -CDLA/ENR. Prezența ENR în amestecul supus procesului EFP a condus, în acest caz, la formarea de particule (**Figura 7.35a**). Creșterea suplimentară la o concentrație de 220% m/v a condus la formare de fibre cu un diametru mediu de  $342 \pm 59$  nm (**Figura 7.35c**). Fibrele au fost, de asemenea, preparate folosind un raport molar de 2/1  $\beta$ -CDLA/ENR la o concentrație de 220% m/v (**Figura 7.35d**), prezentând diametre de  $377 \pm 92$  nm. Pentru comparație, s-au preparat și nanofibre doar pe bază de  $\beta$ -CDLA la concentrația de 220% m/v (**Figura 7.35d**), având diametre de  $307 \pm 77$  nm.





**Figura 7.35.** Imagini SEM pentru  $\beta$ -CDLA/ENR la concentrațiile: a) 180% m/v, b) 200% m/v, c) 220% m/v, utilizând un raport molar 1/1, d) 220% m/v folosind un raport molar de 2/1 și e)  $\beta$ -CDLA 220% m/v

#### 7.3.3.3. Activitatea antibacteriană a nanofibrelor $\beta$ -CDLA cu enrofloxacină

Activitatea antibacteriană a formulărilor de tip nanofibre pe bază de  $\beta$ -CDLA/ENR a fost realizată prin testul de difuzie pe disc utilizând atât bacterii Gram-pozitive (*Staphylococcus aureus*), cât și Gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Conținutul în ENR din fiecare probă a fost similar. Diametrul zonei de inhibare pentru fiecare probă testată (exprimat în mm) este redat în **Tabelul 7.2**.

**Tabel 7.2.** Activitatea antibacteriană in vitro a nanofibrelor  $\beta$ -CDLA/ENR

Probă	Diametrul zonei de inhibare (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
$\beta$ -CDLA/ENR 1/1	26.1±0.05	31.7±0.06	17.1±0.05
$\beta$ -CDLA/ENR 2/1	27.0±0.00	35.1±0.05	18.0±0.00
$\beta$ -CDLA	0	15.0±0.00	0
ENR	29.0±0.00	34.1±0.05	21.0±0.00
apă/DMSO (3/1 v/v)	0	0	0
Ciprofloxacină	26.7±0.06	31.0±0.00	32.3±0.57

În general, se poate observa că formulările  $\beta$ -CDLA/ENR care conțin o cantitate relativ mare de principiu activ (15,6% masic pentru un raport molar de 1/1 și 7,8% masic pentru un raport molar de 2/1) nu afectează semnificativ activitatea antibacteriană. Zonele de inhibare au avut valori apropiate de cele ale ENR pure și ciprofloxacinei, cu excepția *P. aeruginosa*, unde

ciprofloxacina a prezentat o eficacitate superioară. Activitatea antibacteriană a formulărilor de tip nanofibre poate fi atribuită concentrației ridicate a antibioticului, ceea ce conduce la eficiența de inhibare determinată.

## CONCLUZII GENERALE

Teza de față demonstrează avantajele utilizării metodelor de caracterizare structurală avansată, prin spectrometrie de masă cu suportul spectroscopiei RMN, în înțelegerea mecanismelor care guvernează reacțiile de tip ROO în prezența CD. Structura derivaților de tip CDOE este una complexă datorită mai multor variabile introduse prin funcționalizare: gradul de substituție, formarea izomerilor de poziție datorită multitudinii de grupări hidroxil cu rol de inițiator, substituția cu lanțuri oligomerice având o lungime variabilă. Studiile efectuate în cadrul tezei oferă o serie de răspunsuri la problemele menționate prin adaptarea tehnicii de caracterizare MALDI MS, atât din punct de vedere calitativ, cât și cantitativ, și corelarea acesteia cu spectroscopia RMN.

În acest context, experimentele efectuate au fost axate pe investigarea calitativă și cantitativă a polimerizării în soluție a D,L-LA,  $\epsilon$ -CL și  $\delta$ -VL, în prezența CD, după cum urmează:

- Sinteza conjugatelor  $\beta$ -CDLA a fost urmărită utilizând o metodă optimizată MALDI MS, care a fost validată de spectroscopia RMN, remarcându-se un excelent grad de corelație între cele două metode (**Capitolul 2**). Cinetica de reacție a fost determinată prin MALDI MS, urmărind modificarea valorilor  $M_n$  ale speciilor CDLA, și prin  $^1\text{H}$  RMN, observând conversia globală a monomerului. Studiul cinetic este esențial pentru înțelegerea și optimizarea procesului ROO al esterilor ciclici. Astfel, spectrometria de masă a reflectat tipurile de reacții implicate în procesul ROO al D,L-LA, permițând optimizarea sintezei și evitarea unor reacții secundare prin scăderea timpilor de reacție, alegerea solvenților și modificarea raporturilor molare sau a concentrațiilor. Analiza RMN a unui produs tipic  $\beta$ -CDLA a arătat că substituția are loc la mai multe grupări hidroxil din poziția 6 a  $\beta$ -CD, similar reacției efectuate în masă. Caracterizarea MALDI MS și MS/MS a dezvăluit degradarea solvenților (DMF sau NMP) prin ruperea legăturii amidice în condițiile de reacție utilizate. Acest fapt a condus la formarea de amine cu rol de activator în ROO, dar și la formarea de produși secundari, precum  $\beta$ -CDLA-formiat în cazul utilizării DMF.

- Spectrele de masă MALDI MS oferă informații importante pentru dezvoltarea unei metode de cuantificare a reacțiilor de transesterificare în cazul derivaților  $\beta$ -CDLA (**Capitolul 3**). Evaluarea gradului de transesterificare se poate realiza pe baza celor două tipuri principale de serii de semnale din spectrele de masă. Astfel, gradul de transesterificare a fost evaluat în diferite sisteme de reacție pentru a stabili influența unor parametri, în special adăugarea de organocatalizatori. Tendința organocatalizatorilor de a produce reacții de transesterificare a fost analizată atât în cadrul sistemelor ROO, cât și în condițiile efectului degradativ exercitat asupra compușilor de tip  $\beta$ -CDLA. Astfel, efectul organocatalizatorilor de promovare a transesterificărilor crește în ordinea imidazol < DMAP < (-)-sparteină. Studiul influenței solvenților a arătat că sistemele în DMF sunt cele mai reactive, urmate de NMP, în timp ce DMSO conduce la cel mai mic grad de transesterificare. De asemenea, prin studiul influenței concentrației, s-a stabilit că reacțiile de transesterificare intramoleculare au o prevalență mai ridicată.

- Investigarea reacțiilor de tip ROO în prezența CD a luat în considerare un alt ester ciclic frecvent utilizat în sinteza de poliesteri, și anume  $\epsilon$ -CL (**Capitolul 4**). Și în acest caz, datele cinetice obținute din spectrometrie de masă MALDI MS au fost în concordanță cu cele obținute prin analiza conversiei monomerului, utilizând RMN. Investigarea efectului solventului a arătat că sistemele în DMF au reactivitate mai ridicată datorită clivajului legăturii amidice și formării dimetilaminei cu rol de activator, printr-un proces similar cu cel descris în cazul ROO a D,L-LA. Studiul cinetic prin MALDI MS a permis identificarea și cuantificarea proceselor degradative, în special în cazul utilizării organocatalizatorului (-)-sparteină. Analizele RMN efectuate au condus, în premieră, la identificarea a două faze în modificarea  $\beta$ -CD prin ROO a  $\epsilon$ -CL: o atașare rapidă a  $\epsilon$ -CL la grupările hidroxil secundare, urmată de o atașare mai lentă la cele primare, rezultând derivați substituți aleatoriu. În plus, analiza RMN a permis identificarea funcționalizării  $\beta$ -CD la baza mare, atât în poziția 2, cât și în poziția 3 a inelului glicozidic.

- Pornind de la rezultatele obținute în prezența unor amine cu efect moderat, precum DMAP, experimentele au vizat efectul combinat al  $\beta$ -CD și al organocatalizatorilor cu activitate pronunțată, precum DBU sau TBD. Mai concret, a fost studiată cinetica reacției și modul de substituție al derivaților  $\beta$ -CDCL prin RMN și MALDI MS (**Capitolul 5**). Într-o prima fază, s-a demonstrat că formarea unui complex de incluziune între  $\beta$ -CD și  $\epsilon$ -CL poate avea loc într-o soluție de DMSO, având un rol esențial în ceea ce privește mecanismul de reacție,

direcționând substituția inițială către pozițiile 2 și 3 a  $\beta$ -CD. Acest studiu, efectuat în premieră pe soluții de solvenți organici conform datelor de literatură, demonstrează că în ciuda efectului de solvatare a cavității de CD exercitat de DMSO, monomerul este inclus în cavitate într-o geometrie care favorizează proximitatea dintre grupările hidroxil secundare din poziția 2 a inelului glicozidic și funcțiunea esterică din  $\varepsilon$ -CL. Adăugarea de DBU în sistem a permis menținerea selectivității substituției la baza mare, până la atingerea unui anumit grad de substituție, în condițiile accelerării procesului, conform datelor cinetice. Un timp de reacție mai îndelungat a condus la reacții de transfer a unităților substituite din pozițiile 2,3 la poziția 6. Adăugarea unui organocatalizator și mai puternic, TBD, a dus rapid la o substituție aleatorie de la începutul reacției, iar extinderea timpului de reacție, a permis obținerea unui derivat substituit exclusiv la baza mică. Reacțiile de transfer de la 2,3 la 6 au loc prin transesterificarea lanțurilor incluse în cavitatea de CD, conform datelor ROESY RMN. De asemenea, sistemele cu TBD au condus la formarea de OCL ciclică și liniară, acestea fiind identificate și cuantificate de-a lungul reacției prin intermediul comparației datelor cinetice MALDI MS și RMN. Procesul de transfer de la 2,3 la 6 a fost demonstrat prin urmărirea modificărilor modului de substituție într-o reacție de transesterificare în prezență de TBD, pornind de la un produs substituit exclusiv la grupările hidroxil secundare (obținut cu DBU). Astfel, s-a observat formarea unui produs substituit exclusiv în poziția 6 după 24 h. În final, a fost evaluat prin MALDI MS comportamentul seriei de omologi de CD în deschiderea ciclului  $\varepsilon$ -CL, stabilindu-se ordinea de reactivitate  $\alpha$ -CD <  $\gamma$ -CD <  $\beta$ -CD.

- Activarea esterilor ciclici de către CD în prezența organocatalizatorilor DBU și TBD a fost studiată și în cazul  $\delta$ -VL (**Capitolul 6**). Utilizând spectroscopia RMN și spectrometria de masă MALDI MS, s-a determinat cinetica celor două reacții și s-a stabilit structura produșilor. Analiza RMN a identificat modurile de atașare ale  $\delta$ -VL la unitățile de glucopiranoză, indicând substituția la grupările hidroxil primare ale  $\beta$ -CD în ambele sisteme, datorită reactivității crescute a  $\delta$ -VL față de  $\varepsilon$ -CL (**Capitolul 5**). Procesul ROO al  $\delta$ -VL în absența organocatalizatorilor a condus la o substituție exclusivă în pozițiile 2 și 3, confirmând un mecanism de reacție similar celui propus în cazul  $\varepsilon$ -CL. Alegerea tipului de CD în ROO a  $\delta$ -VL cu organocatalizatorul TBD a influențat semnificativ reacția și structura compușilor, stabilindu-se în cadrul studiilor cinetice prin MALDI MS următoarea ordine a reactivității  $\gamma$ -CD <  $\alpha$ -CD <  $\beta$ -CD.

• Potențialul aplicativ al derivaților CDOE (obținuți prin procese ROO ale D,L-LA,  $\epsilon$ -CL și  $\delta$ -VL folosind organocatalizatori precum DMAP sau TBD) a fost determinat prin investigarea procesului de formare a nanofibrelor prin electrofilare fără adaos de polimeri – EFP (**Capitolul 7**). Procesul de tip EFP valorifică capacitatea de electrofilare a soluțiilor concentrate ale derivaților de CD, astfel beneficiind de solubilitatea ridicată a derivaților de tip CDOE față de CD native. Mai întâi, experimentele de electrofilare au fost efectuate pe soluții concentrate ale  $\alpha$ -,  $\beta$ - și  $\gamma$ -CDLA în amestecuri de solvenți cu toxicitate redusă, și anume apă/etanol. Nanofibrele pe bază de  $\beta$ - și  $\gamma$ -CDLA au fost obținute la o concentrație de 160% m/v, în timp ce  $\alpha$ -CDLA a necesitat o concentrație mai ridicată de 200% m/v; diametrele fibrelor au fost de aproximativ 350 nm în cazul  $\alpha$ - și  $\beta$ -CDLA, respectiv 450 nm în cazul  $\gamma$ -CDLA. Studiile de sorbție dinamică a vaporilor de apă au dezvăluit schimbări în interacțiunile cu apa induse în CDOE prin electrofilare. Deși nanofibrele  $\beta$ -CDLA au prezentat o capacitate de sorbție a apei mai mare, au necesitat un timp mai lung datorită interacțiunilor intermoleculare diferite în comparație cu derivatul nativ. Derivații  $\beta$ -CDCL și  $\beta$ -CDVL au fost, de asemenea, electrofilați folosind soluții concentrate în DMF. Fibrele  $\beta$ -CDCL s-au format la 190% m/v, în timp ce  $\beta$ -CDVL a necesitat peste 210% m/v; în ambele cazuri diametrele au aproximativ 630 nm. Corelarea viscozității cu concentrația soluțiilor a permis determinarea concentrației critice de electrofilare pentru cei doi derivați, prin raportare la rezultatele obținute prin microscopia SEM. Mai mult, studiul a ilustrat potențialul derivaților CDLA în formularea farmaceutică a compușilor bioactivi prin prepararea EFP de nanofibre încărcate cu compuși antioxidanți (curcumină, magnolol, honokiol) și un antibiotic de uz veterinar (enrofloxacină). Cu excepția formulărilor  $\alpha$ -CDLA/curcumină și  $\beta$ -CDLA/enrofloxacină, care au necesitat concentrații de 220% m/v, toate nanofibrele au fost obținute la o concentrație a soluțiilor de 180% m/v. Diametrele medii ale fibrelor variază în funcție de sistem, găsindu-se în intervalul 250-450 nm și pot fi corelate cu viscozitatea soluțiilor. Tehnicile de caracterizare au confirmat prezența compușilor bioactivi în nanofibre, menținându-se raporturile molare dintre componenți. Testele antioxidante au arătat activitatea superioară a anumitor formulări, iar testele antibacteriene au dovedit că nanofibrele încărcate păstrează activitatea de inhibare a antibioticului.

Rezultatele originale, menționate mai sus într-o formă succintă constituie subiectul a 6 lucrări cotate ISI (FI cumulată: 34,4), 9 comunicări și 4 postere prezentate în cadrul unor conferințe naționale și internaționale.

## DISEMINAREA REZULTATELOR ȘI ALTE ACTIVITĂȚI ȘTIINȚIFICE

### Lucrări publicate în reviste științifice cotate ISI (rezultate incluse în teză)

1. **Blaj D.-A.**, Peptu C.A., Danu M., Harabagiu V., Peptu C., Bujor A., Ochiuz L., Tuchiluş C.G. Enrofloxacin Pharmaceutical Formulations through the Polymer-Free Electrospinning of  $\beta$ -Cyclodextrin–oligolactide Derivatives, *Pharmaceutics*, 16, 903, 2024. (FI ISI: 4,9)
2. **Blaj D.-A.**, Balan-Porcarasu M., Harabagiu V., Peptu C. Synthesis of  $\beta$ -cyclodextrin derivatives substituted at larger or smaller rims via amine-catalyzed ring-opening oligomerization of  $\epsilon$ -caprolactone, *Carbohydrate Polymers*, 334, 122032, 2024. (FI ISI: 10,7)
3. Peptu C., **Blaj, D.-A.**, Balan-Porcarasu M., Peptu C.A., Harabagiu V. Custom-modified oligolactide-cyclodextrin derivatives for electrospun drug formulations. *European Polymer Journal*, 196, 112234, 2023. (FI ISI: 5,8)
4. **Blaj D.-A.**, Kowalczyk M., Peptu C. Mass Spectrometry of Esterified Cyclodextrins. *Molecules*, 28, 2001, 2023. (FI ISI: 4,2)
5. Peptu C., **Blaj D.-A.**, Balan-Porcarasu M., Rydz J. Cyclodextrin-Oligocaprolactone Derivatives—Synthesis and Advanced Structural Characterization by MALDI Mass Spectrometry. *Polymers*, 14, 1436, 2022. (FI ISI: 4,7)
6. **Blaj D.A.**, Balan-Porcarasu M., Petre B.A., Harabagiu V., Peptu C. MALDI mass spectrometry monitoring of cyclodextrin-oligolactide derivatives synthesis. *Polymer*, 233, 124186, 2021. (FI ISI: 4,1)

### Lucrări publicate în reviste științifice cotate ISI (rezultate care nu sunt incluse în teză)

1. **Blaj D.-A.**, Diaconu A.-D., Harabagiu V., Peptu C. Polyethylene Glycol-Isophorone Diisocyanate Polyurethane Prepolymers Tailored Using MALDI MS. *Materials*, 16, 821, 2023. (FI ISI: 3,1)
2. Damoc M., Stoica A.-C., **Blaj D.-A.**, Macsim A.-M., Dascalu M., Cojocaru C., Shova S., Cazacu M. Fourteen-member silacycle built by cascade reactions induced by a platinum catalyst, *Journal of Molecular Structure*, 1269, 133760, 2022. (FI ISI: 4)

### Capitol de carte (nu este inclus în teză)

1. **Blaj D.-A.**, Rotaru R., Peptu C. 16 - Protective textiles from natural resources for electromagnetic shielding, Editor(s): Md. Ibrahim H. Mondal, In *The Textile Institute*

Book Series, Protective Textiles from Natural Resources, Woodhead Publishing, 2022, Pages 469-510, ISBN 9780323904773.

### **Participări la manifestări științifice naționale și internaționale (rezultate incluse în teză)**

#### **a. Comunicări orale**

1. MALDI MS Kinetics for Ring-Opening Oligomerization of Cyclic Esters in the Presence of Cyclodextrin, Cristian Peptu, **Diana-Andreea Blaj**, Mihaela Balan-Porcarasu, 40th Informal Meeting on Mass Spectrometry, 12-15 mai 2024, Budapesta, Ungaria.
2. MALDI mass spectrometry-based analytical approach for the analysis of ring-opening oligomerization of cyclic esters in the presence of cyclodextrin, Cristian Peptu, **Diana-Andreea Blaj**, Mihaela Balan-Porcarasu, Valeria Harabagiu, 29<sup>th</sup> edition of Progress in the Science of Organic and Macromolecular Compounds, 4-6 Octombrie 2023, Iași, România.
3. The influence of cyclodextrin's cavity size on the ring-opening oligomerization of cyclic esters, **Diana-Andreea Blaj**, Valeria Harabagiu, Cristian Peptu, 33<sup>rd</sup> edition of the International Conference of "Apollonia" University, 2-5 Martie 2023, Iași, România.
4. Reactivity insights in  $\beta$ -cyclodextrin- $\epsilon$ -caprolactone oligomerization reactions by MALDI mass spectrometry, **D. A. Blaj**, M. Balan-Porcarasu, V. Harabagiu, C. Peptu, 3<sup>rd</sup> edition of Scientific communications session of young researchers (MacroYouth 2022), 18 Noiembrie 2022, Iași, România.
5. NMR study of some  $\beta$ -cyclodextrin-oligocaprolactone derivatives, M. Balan-Porcarasu, **D. A. Blaj**, C. Peptu, V. Harabagiu, 3<sup>rd</sup> edition of Scientific communications session of young researchers (MacroYouth 2022), 18 Noiembrie 2022, Iași, România.
6. Cyclodextrin initiated ring opening oligomerization of  $\epsilon$ -caprolactone – structural insights via MALDI mass spectrometry and NMR spectroscopy, **D. A. Blaj**, M. Balan-Porcarasu, V. Harabagiu, C. Peptu, 32<sup>nd</sup> edition of the International Conference of "Apollonia" University, 1-2 Martie 2022, Iași, România.
7. Elucidation of Complex Structures through Mass Spectrometry Fragmentation Studies, **D. A. Blaj**, M. Balan-Porcarasu, V. Harabagiu, C. Peptu, 2<sup>nd</sup> edition of Scientific communications session of young researchers (MacroYouth 2021), 19 Noiembrie 2021, Iași, România.

8. Mass Spectrometry Monitoring of Polymerization Reactions in the Presence of Cyclodextrins, **D. Blaj**, V. Harabagiu, C. Peptu, 1<sup>st</sup> edition of Scientific communications session of young researchers (MacroYouth 2020), 19 Noiembrie 2020, Iași, România.
9. MALDI mass spectrometry as a tool for the structural characterization of the complex chemical structures, **D. Blaj**, C. Peptu, 30<sup>th</sup> edition of the International Conference of “Apollonia” University, 28 Februarie - 3 Martie 2020, Iași, România.

#### **b. Postere**

1. MALDI MS Quantification of Transesterification Reactions in the Ring-Opening Polymerization of Lactides, **Diana-Andreea Blaj**, Cristian Peptu, 40th Informal Meeting on Mass Spectrometry, 12-15 mai 2024, Budapesta, Ungaria.
2. MALDI mass spectrometry monitoring of cyclodextrin-oligolactide synthesis, **D.-A. Blaj**, C. Peptu, V. Harabagiu, The Silesian Meetings on Polymer Materials POLYMAT 2022 - 17 Martie 2022, Zabrze, Polonia.
3. Cyclodextrin-oligocaprolactone synthesis – advanced structural studies by MALDI mass spectrometry and NMR spectroscopy, C. Peptu, **D.-A. Blaj**, M. Balan-Porcarasu, J. Rydz, The Silesian Meetings on Polymer Materials POLYMAT 2022, 17 Martie 2022, Zabrze, Polonia.
4. Cyclodextrin involvement in the ring opening polymerization of D,L-lactide monitored by MALDI mass spectrometry, **D. Blaj**, C. Peptu, V. Harabagiu, 4<sup>th</sup> International EPNOE Junior Scientist Meeting, 3-4 Februarie 2021.

#### **Membru în echipa de cercetare a proiectelor**

1. Platforme dinamice pe bază de oligo/polizaharide reticulate prin reacții de tip tiol-enă cu aplicații biomedicale, proiect **PN-III-P4-PCE-2021-1365**, contract de finanțare nr. PCE115/2022 (2022-2024).
2. *Design of cyclodextrin-polyester-amides for special applications* (Proiect de schimburi interacademice dintre Academia Română (ICMPP, Iași) și Academia de Științe a Poloniei (Centre of Polymer and Carbon Materials Polish Academy of Sciences, Zabrze).
3. *PHA-based inclusion complexes with cyclodextrin – preparation and degradation study* (Proiect de schimburi interacademice dintre Academia Română (ICMPP, Iași) și Academia de Științe a Poloniei (Centre of Polymer and Carbon Materials Polish



Academy of Sciences, Zabrze).

## REFERINȚE

- Crini G. A History of Cyclodextrins. *Chemical Reviews*, 114(21), 10940–10975, 2014.
- Topuz F., Uyar T. Electrospinning of Cyclodextrin Functional Nanofibers for Drug Delivery Applications. *Pharmaceutics*, 11(6), 6, 2019.
- Shen Z., Hai A., Du G., Zhang H., Sun H. A convenient preparation of 6-oligo(lactic acid)cyclomaltoheptaose as kinetically degradable derivative for controlled release of amoxicillin. *Carbohydrate Research*, 343, 2517–2522, 2008.
- Opalkova Siskova A., Sacarescu L., Opalek A., Mosnacek J., Peptu C. Electrospinning of Cyclodextrin–Oligolactide Derivatives. *Biomolecules*, 13, 203, 2023.
- Takashima Y., Osaki M., Harada A. Cyclodextrin-Initiated Polymerization of Cyclic Esters in Bulk: Formation of Polyester-Tethered Cyclodextrins. *Journal of the American Chemical Society*, 126, 13588–13589, 2004.
- Weidner S.M., Kricheldorf H.R. Transesterification in the solid state of cyclic and linear poly(L-lactide)s. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 218, 1700114, 2017.
- Dove A. Organic catalysis for ring-opening polymerization. *ACS Macro Letters*, 1, 1409-1412, 2012.
- Nederberg N., Connor E.F., Moller M., Glauser T., Hedrick J.L. New paradigms for organic catalysts: the first organocatalytic living polymerization. *Angewandte Chemie International Edition*, 40, 2712-2715, 2001.
- Coulebrier O., Dubois P. 4-dimethylaminopyridine-based organoactivation: from simple esterification to lactide ring-opening “Living” polymerization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 50, 1672-1680, 2012.
- Lohmeijer B.G.C., Pratt R.C., Leibfarth F., Logan J.W., Long D.A., Dove A.P., Nederberg F., Choi J., Wade C., Waymouth R.M., Hedrick J.L. Guanidine and amidine organocatalysts for ring-opening polymerization of cyclic esters. *Macromolecules*, 39, 8574-8583, 2006.
- Coulebrier O., Josse T., Guillerm B., Gerbaux P., Dubois P. An imidazole-based organocatalyst designed for bulk polymerization of lactide isomers: inspiration from Nature. *Chemical Communications*, 48, 11695-11697, 2012.
- Coulebrier O., de Winter J., Josse T., Mespouille L., Gerbaux P., Dubois P. One-step synthesis of polylactide macrocycles from sparteine-initiated ROP. *Polymer Chemistry*, 5, 2103, 2014.

Weidner S.M., Kricheldorf H.R. Transesterification in alcohol-initiated ROPs of L- and meso-lactide catalyzed by Sn(II) and Sn(IV) compounds at low temperatures. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 1800445, 2018.

Peptu C., Nicolescu A., Peptu C.A., Harabagiu V., Simionescu B.C., Kowalczyk, M. Mass spectrometry characterization of 3-OH butyrate  $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 48, 5581–5592, 2010.

Peptu C., Balan-Porcarasu M., Siskova A., Skultety L., Mosnacek J. Cyclodextrins tethered with oligolactides—Green synthesis and structural assessment. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 13, 779–792, 2017.

Peptu C., Danchenko M., Skultety L., Mosnacek J. Structural Architectural Features of Cyclodextrin Oligoesters Revealed by Fragmentation Mass Spectrometry Analysis. *Molecules*, 23, 2259, 2018.

Barner-Kowollik C., Gruendling T., Falkenhagen J., Weidner S. *Mass spectrometry in polymer chemistry*. John Wiley & Sons, Germany, 2012.

Montaudo G., Samperi F., Montaudo M.S. Characterization of synthetic polymers by MALDI-MS. *Prog. Polym. Sci.* 31, 277–357, 2006.

Dodero A., Schlatter G., Hebraud A., Vicini S., Castellano M. Polymer-free cyclodextrin and natural polymer-cyclodextrin electrospun nanofibers: A comprehensive review on current applications and future perspectives. *Carbohydrate Polymers*, 264, 118042, 2021.

Celebioglu A., Uyar T. Cyclodextrin nanofibers by electrospinning. *Chemical Communications*, 46, 6903–6905, 2010.

Rizzarelli P., Carroccio S. Modern mass spectrometry in the characterization and degradation of biodegradable polymers. *Analytica Chimica Acta*, 808, 18-43, 2014.

Jalabert M., Fraschini C., Prud'homme R.E. Synthesis and Characterization of Poly(L-Lactide)s and Poly(D-Lactide)s of Controlled Molecular Weight. *Journal of Polymer Science Part A Polymer Chemistry*, 45, 1944-1955, 2007.

Sosnowski S., Lewinski P. L-Lactide Polymerization Catalysed by Tin(II) 2-Ethyl-Hexanoate. A Deeper Look at Chain Transfer Reactions. *Polymer Chemistry*, 6, 6292, 2015.

Topuz F., Kilic M.E., Durgun E., Szekely G. Fast-dissolving antibacterial nanofibers of cyclodextrin/antibiotic inclusion complexes for oral drug delivery. *Journal of Colloid and Interface Science*, 585, 184-194, 2021.