ȘCOALA DE STUDII AVANSATE A ACADEMIEI ROMÂNE

ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE CHIMICE

INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARĂ

„PETRU PONI”

Domeniul CHIMIE

STUDII IN SILICO ALE SISTEMELOR DINAMICE AUTO-ANSAMBLATE ÎN CONTROLUL TRANSPORTULUI ȘI ELIBERĂRII PRINCIPIILOR ACTIVE DIN MEDICAMENTE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:

PROF. DR. AATTO LAAKSONEN

Student-doctorand:

PETRU TÎRNOVAN

2026

Mulțumiri

Această teză de doctorat reprezintă pentru mine rezultatul unui efort continuu de învățare și perfecționare pe parcursul anilor, precum și o sinteză a cunoștințelor dobândite și aplicate în domeniul chimiei teoretice. Încheierea stagiului doctoral, marchează finalul unei etape importante din parcursul meu ca cercetător și, totodată, calea către un orizont științific mai vast.

Doresc să îi mulțumesc conducătorului meu de doctorat, **Prof. Dr. Aatto Laaksonen**, pentru îndrumarea oferită și pentru resursele științifice de care am beneficiat pe parcursul acestei etape.

Adresez cele mai sincere mulțumiri doamnei **CS I Dr. Mariana Pinteală** pentru îndrumare, sprijinul moral, logistic, precum și pentru răbdarea de care a dat dovadă pe parcursul întregii perioade doctorale. Susținerea sa a avut un rol esențial în finalizarea acestui parcurs.

Le sunt profund recunoscător doamnei **Dr. Narcisa-Laura Marangoci** și domnului **Dr. Dragoș-Lucian Isac** pentru îndrumarea în cadrul activității de cercetare, pentru oportunitățile de colaborare și pentru sprijinul constant acordat în elaborarea tezei de doctorat.

Îi mulțumesc doamnei **Prof. Dr. Francesca Mocci** de la **Universitatea din Cagliari**, Italia, pentru sprijinul oferit în aplicarea unor metode computaționale. De asemenea îi mulțumesc doamnei **Conf. Dr. Elena Simona Băcăiță** de la **Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi”** din Iași, pentru sprijinul acordat și pentru colaborarea științifică desfășurată în această perioadă.

Le mulțumesc tuturor colegilor din **Intelcentru** pentru idei, sfaturi și sprijinul oferit.

Îmi exprim recunoștința față de **Academia Română** și **Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”** pentru oportunitatea de a urma acest program doctoral și pentru infrastructura pusă la dispoziție în vederea desfășurării activității de cercetare.

Cercetarea prezentată în această teză de doctorat a fost realizată cu sprijinul financiar acordat prin următoarele proiecte de cercetare: **„Intelligent systems for cancer diagnosis and treatment - IntelDots” PNRR-III-C9-2022-I8-291** și **„BioMat4CAST - “Petru Poni“ Institute of Macromolecular Chemistry Multi-Scale In Silico Laboratory for Complex and Smart Biomaterials” Grant Agreement No 101086667.**

Doresc de asemenea să mulțumesc companiei **FreeYaMind Campus** pentru acces la cursurile de calcul cuantic și la infrastructura specifică.

Nu în ultimul rând, îi sunt profund recunoscător **familiei mele**, pentru sprijinul moral, sacrificiile neîncetate și pentru contribuția esențială la tot ceea ce am realizat de-a lungul acestor ani.

Cu recunoștință,

Drd. Petru Tîrnovan

CUPRINS

LISTA DE ABREVIERI

INTRODUCERE 1

PARTEA I: STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRII ÎN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT 4

CAPITOLUL I. IMPORTANȚA SISTEMELOR AUTO-ANSAMBLATE ÎN LIVRAREA FORMULĂRILOR FARMACEUTICE 4

I.1. Principii generale. Date de literatură. 4

I.2. Metode ale chimiei teoretice aplicate în studiul sistemelor de livrare a principiilor active medicamentoase 13

I.2.1. Metode ale chimiei cuantice 13

I.2.1.1. Metode ab initio 17

I.2.1.2. Metoda funcționalei de densitate 23

I.2.2. Metoda andocării moleculare 27

I.2.3. Metode ale dinamicii moleculare 28

I.2.4. Metoda eșantionării de tip umbrelă. Potențialul forței medii 35

I.3. Sisteme pe bază de ciclodextrine cu potențial în livrarea principiilor active 37

I.3.1. Ciclodextrine. Definiție. Structură. Caracterizare. 37

I.3.2. Aplicații ale ciclodextrinelor în livrarea formulărilor farmaceutice 39

I.4. Sisteme pe bază de PNIPAM cu potențial în livrarea principiilor active 40

I.5. Sisteme pe bază de grafen cu potențial în livrarea principiilor active 43

PARTEA a-II-a: CONTRIBUȚII ORIGINALE 49

CAPITOLUL II. COMPLECȘI DE INCLUZIUNE PE BAZĂ DE β-CICLODEXTRINĂ 49

II.1. COMPLECȘI DE INCLUZIUNE PROPICONAZOL/CICLODEXTRINA ($PCZH\text{-}NO_3$/β-CD): ROLUL COSOLVENTULUI 49

II.1.1. Introducere: motivarea și obiectivele studiului 49

II.1.2. Materiale și metode 54

II.1.2.1. Materiale și metode utilizate în studiul experimental 54

II.1.2.2. Studii de dinamică moleculară 54

II.1.3. Rezultate și discuții 55

II.1.4. Concluzii 74

II. 2. COMPLECȘI DE INCLUZIUNE L-2-OXOTIAZOLIN-4-CARBOXILAT DE 2,6-DIAMINO-1-N-HIDROXI-4-(PIRROLIDIN-1'-IL)-PIRIMIDIN-1-IU (MPPC)/β-CD: ROLUL IONILOR ORGANICI 75

II.2.1. Introducere: motivarea și obiectivele studiului 75
II.2.2. Materiale și metode 78
II.2.2.1. Materiale și metode experimentale 78
II.2.2.2. Metode de calcul teoretic 81
II.2.3. Rezultate și discuții 87
II.2.3.1. Rezultate teoretice și discuții 87
II.2.3.2. Rezultate experimentale și discuții 96
II.2.4. Concluzii 108
CAPITOLUL III. SISTEME MOLECULARE CU POTENȚIAL ÎN TRANSPORTUL MEDICAMENTELOR: STUDII *IN SILICO* PRIVIND INFULENȚA MODELULUI DE SOLVATARE ASUPRA LCST A POLIMERILOR SENSIBILI LA STIMULI PE BAZĂ DE PNIPAM 110
III.1. Introducere: motivarea și obiectivele cercetării 110
III.2. Metode de calcul teoretic 114
III.3. Rezultate și discuții 118
III.4. Concluzii 138
CAPITOLUL IV. SISTEME MOLECULARE CU POTENȚIAL ÎN BIOIMAGISTICĂ: STUDIU TD-DFT PRIVIND INFLUENȚA STRUCTURII ASUPRA LUNGIMII DE UNDĂ DE ABSORBȚIE ÎN HIDROCARBURI AROMATICE POLICICLICE (PAH) ȘI PUNCTE CUANTICE DE CARBON PE BAZĂ DE GRAFEN (GQD). 140
IV.1. Introducere: motivarea și obiectivele cercetării 140
IV.2. Metode de calcul teoretic 142
IV.3. Rezultate și discuții 146
IV.4. Concluzii 174
CONCLUZII GENERALE 177
BIBLIOGRAFIE 184
ANEXA 1. DISEMINAREA REZULTATELOR
ANEXA 2. BAZE DE DATE OBȚINUTE DIN STUDIILE TEORETICE DIN CAPITOLUL IV

INTRODUCERE

Sistemele cu potențial în transportul și eliberarea controlată a medicamentelor reprezintă una dintre direcțiile majore ale medicinii moderne, având un rol esențial în creșterea eficienței terapeutice și în reducerea efectelor adverse asociate tratamentelor convenționale. În practica medicală clasică, administrarea unui medicament presupune, de cele mai multe ori, distribuția acestuia la nivelul întregului organism, indiferent dacă ținta terapeutică este localizată într-un anumit organ, țesut sau tip celular. Această distribuție nespecifică poate determina pierderi importante ale substanței active, rezultând în necesitatea administrării unor doze mai mari și apariția unor reacții secundare nedorite, în special în cazul compușilor cu toxicitate ridicată sau cu fereastră terapeutică îngustă. În acest context, dezvoltarea unor sisteme capabile să înglobeze, să transporte principiul activ către zona afectată și să îl elibereze într-un mod controlat a devenit o prioritate pentru cercetarea biomedicală contemporană.

În ultimele decenii, progresul în domeniul științei materialelor, nanotehnologiei, chimiei polimerilor și biotehnologiei a permis proiectarea unor platforme complexe pentru livrarea medicamentelor. Printre acestea se numără nanoparticulele polimerice, lipozomii, micelele, hidrogelurile, dendrimerii, nanocapsulele, sistemele pe bază de materiale anorganice și conjugatele medicament-polimer. Aceste sisteme pot fi concepute astfel încât să protejeze substanța activă împotriva degradării enzimatice sau chimice, să îi îmbunătățească solubilitatea, să îi prelungească timpul de circulație în organism și să faciliteze acumularea la nivelul țesutului afectat. În plus, prin funcționalizarea suprafeței cu liganzi specifici, anticorpi, peptide sau alte molecule de recunoaștere, transportorii pot dobândi capacitatea de a interacționa selectiv cu anumite celule sau structuri biologice, permițând livrarea țintită a principiului activ la nivelul regiunii afectate.

Studiul interacțiunilor responsabile de proprietățile acestor sisteme este de o importanță majoră, deoarece din datele obținute se poate prezice cât de eficiente aceste sisteme vor fi la momentul utilizării și mecanismul lor de operare la nivel biologic. Metodele *in silico* dezvoltate în ultimii ani au devenit o cale robustă și rapidă în analiza acestor sisteme, utilizând doar puterea de calcul oferită de calculatoare cu un număr mare de procesoare clasice (CPU) și grafice (GPU). Prin utilizarea metodelor de calcul computațional, în tandem cu analiza și validarea experimentală, cercetătorul poate crea și controla sisteme chimice capabile de transport al medicamentelor mult mai rapid, economisind timp, resurse financiare,

materiale și substanțe uzual folosite în munca experimentală de laborator, contribuind în același timp la strategia economiei circulare.

În concluzie, dezvoltarea unor sisteme capabile să transporte și să elibereze controlat principiile active presupune înțelegerea proceselor moleculare care determină stabilitatea, selectivitatea și răspunsul acestora la condițiile mediului. Complexarea unei substanțe active, reorganizarea conformațională a unui polimer sau modificarea structurii electronice a unui nanomaterial pot influența proprietățile relevante pentru utilizarea biomedicală. Investigarea acestor procese la nivel molecular oferă repere pentru proiectarea și optimizarea sistemelor de transport al medicamentelor și a materialelor pentru bioimagistică.

Teza de doctorat intitulată „**STUDII IN SILICO ALE SISTEMELOR DINAMICE AUTO-ANSAMBLATE ÎN CONTROLUL TRANSPORTULUI ȘI ELIBERĂRII PRINCIPIILOR ACTIVE DIN MEDICAMENTE**” are ca obiectiv general investigarea, prin metode in silico complementare, a relației dintre structură, interacțiuni moleculare și proprietățile unor sisteme cu potențial în transportul și eliberarea controlată a principiilor active sau în bioimagistică. Cercetarea urmărește elucidarea mecanismelor de complexare, caracterizarea răspunsului conformațional la temperatură și evaluarea influenței modificărilor structurale asupra proprietăților optice. În acest scop, sunt studiate trei clase de sisteme: complecși de incluziune pe bază de β-ciclodextrină, polimeri termoresponsivi de tip poli(N-izopropilacrilamidă) (PNIPAM) și puncte cuantice de grafen (GQD).

Teza este structurată în două părți. **Partea I**, dedicată stadiului actual al cercetării, cuprinde **Capitolul I**, care prezintă un studiu de literatură privind principalele clase de sisteme utilizate pentru transportul și eliberarea principiilor active medicamentoase, cu accent pe complecșii de incluziune, polimerii sensibili la stimuli și materialele grafenice. Analiza literaturii evidențiază faptul că proprietățile sistemelor destinate transportului și eliberării principiilor active depind de interacțiunile gazdă-oaspete, de răspunsul conformațional la condițiile mediului și de particularitățile structurale ale materialelor utilizate. Caracterizarea acestor procese necesită metode complementare, capabile să descrie atât dinamica moleculară, cât și structura electronică. Totodată, capitolul descrie metodele chimiei teoretice aplicate în investigarea acestor sisteme și oferă cadrul conceptual pentru studiile originale dezvoltate în **Partea a II-a**, care cuprinde **Capitolele II-IV**.

Capitolul II este dedicat complecșilor de incluziune pe bază de β-ciclodextrină și urmărește identificarea factorilor care controlează orientarea, selectivitatea și stabilitatea asocierii gazdă-oaspete. Primul studiu analizează influența compoziției amestecului apă-dimetilsulfoxid asupra complexării nitratului de propiconazol (PCZH-NO_3), cu accent pe

competiția dintre cosolvent și molecula oaspete pentru ocuparea cavității ciclodextrinei. Al doilea studiu investighează complexarea formulării ionice MPPC, principiul activ din Minoxicapil®, urmărind comportamentul distinct al cationului și al anionului în interacțiunea cu β-ciclodextrina. Rezultatele teoretice sunt corelate cu determinări experimentale pentru caracterizarea mecanismelor de incluziune și a interacțiunilor intermoleculare implicate.

Capitolul III abordează comportamentul termoresponsiv al PNIPAM, un polimer cu potențial în dezvoltarea sistemelor de eliberare controlată a medicamentelor. Prin simulări de dinamică moleculară, este analizată influența modelului de apă și a numărului de lanțuri polimerice asupra hidratării, interacțiunilor dintre lanțuri și tranziției de la conformații extinse la conformații compacte. Studiul urmărește identificarea condițiilor de simulare și a descriptorilor moleculari care permit caracterizarea acestei tranziții în apropierea temperaturii critice inferioare de solubilitate (*Lowest Critical Solution Temperature*, LCST), precum și elucidarea rolului legăturilor de hidrogen în procesul de compactare.

Capitolul IV investighează relația dintre structura moleculară și proprietățile de absorbție optică ale hidrocarburilor aromatice policiclice și ale punctelor cuantice de grafen. Sunt analizate sistematic efectele dimensiunii, tipului marginilor, numărului de straturi, funcționalizării și defectelor structurale asupra poziției benzilor de absorbție. Având în vedere complexitatea structurilor GQD obținute experimental, studiul utilizează modele moleculare pentru a examina modul în care modificările structurale influențează răspunsul optic. Rezultatele oferă repere pentru proiectarea unor materiale cu proprietăți optice ajustabile, relevante pentru dezvoltarea ulterioară a aplicațiilor de bioimagistică, în timp ce utilizarea lor în transportul substanțelor active rămâne o perspectivă care necesită investigații suplimentare.

Alegerea metodelor *in silico* răspunde necesității de a descrie procesele studiate la nivel atomistic și electronic. În **Capitolul II**, andocarea moleculară permite explorarea configurațiilor de legare, simulările de dinamică moleculară urmăresc evoluția complecșilor și interacțiunile cu solventul, iar eșantionarea de tip umbrelă permite construirea profilurilor de energie liberă asociate complexării. În **Capitolul III**, dinamica moleculară este utilizată pentru caracterizarea hidratării și a reorganizării conformaționale a sistemelor PNIPAM în funcție de temperatură. În **Capitolul IV**, teoria funcționalei de densitate (DFT) și extensia sa dependentă de timp (TD-DFT) permit analiza structurii electronice și a tranzițiilor acestora (din stare fundamentală în stare excitată). Prin complementaritatea lor, aceste metode oferă explicații mecanistice pentru procese dificil de urmărit direct experimental și permit confruntarea predicțiilor teoretice cu măsurători, acolo unde acestea sunt disponibile.

CAPITOLUL II. COMPLECȘI DE INCLUZIUNE PE BAZĂ DE β-CICLODEXTRINĂ

II.1. COMPLECȘI DE INCLUZIUNE PROPICONAZOL/CICLODEXTRINA (PCZH-NO_3/β-CD): ROLUL COSOLVENTULUI

Studiul privind complexul de incluziune dintre nitratul de propiconazol și β-ciclodextrină a fost motivat de necesitatea îmbunătățirii formulărilor antifungice și a eficienței lor terapeutice. Propiconazolul este un compus azolic cu activitate antifungică importantă (Fifere et al., 2012; Marangoci et al., 2011), însă proprietățile sale fizico-chimice pot limita utilizarea optimă în anumite formulări. β-ciclodextrina a fost aleasă ca sistem gazdă datorită capacității sale de a include în cavitatea hidrofobă fragmente ale moleculei de propiconazol. Formarea unui astfel de complex poate contribui la creșterea stabilității, solubilității și disponibilității substanței active (Pricope et al., 2018). **Scopul studiului** a fost evaluarea influenței compoziției amestecurilor apă-dimetilsulfoxid (DMSO) asupra formării și stabilității complexului nitrat de propiconazol/β-ciclodextrină. Problema investigată a vizat rolul DMSO în procesul de complexare, deoarece acesta poate interacționa atât cu molecula gazdă, cât și cu molecula oaspete și poate concura pentru ocuparea cavității ciclodextrinei (Isac et al., 2025).

Pentru elucidarea acestui mecanism, au fost utilizate simulări de dinamică moleculară și calcule ale profilurilor de energie liberă, iar rezultatele teoretice au fost corelate cu date experimentale obținute prin spectroscopie RMN.

Contribuția originală constă în descrierea la nivel molecular a competiției dintre DMSO, apă și nitratul de propiconazol pentru ocuparea cavității β-ciclodextrinei și în caracterizarea influenței compoziției solventului asupra favorabilității complexării. Abordarea combinată teoretico-experimentală a permis corelarea comportamentului dinamic al moleculelor din cavitate cu modificările afinității de asociere a moleculei oaspete.

Rezultatele obținute arată că moleculele de DMSO ocupă dinamic cavitatea β-ciclodextrinei și concurează cu nitratul de propiconazol pentru incluziune. Creșterea proporției de DMSO în intervalul investigat conduce la valori mai puțin negative ale energiei libere asociate complexării, indicând o asociere mai puțin favorabilă, în timp ce amestecurile cu proporții reduse de DMSO favorizează formarea complexului. Aceste rezultate clarifică rolul cosolventului în mecanismul de incluziune și oferă repere pentru alegerea mediului de complexare în dezvoltarea formulărilor pe bază de nitrat de propiconazol și β-ciclodextrină.

II.1.3. Rezultate și discuții

În orice reacție de complexare, interacțiunile intermoleculare dominante joacă un rol esențial în determinarea direcției și evoluției acesteia. Factorii determinanți principali sunt proprietățile compusului țintă și ale sistemului solvent/cosolvent. În plus, proprietățile CD, inclusiv dimensiunea și dinamica conformațională, influențează aceste interacții, iar modificările structurale apar ca răspuns la variațiile raportului solvent/cosolvent.

Pentru a evalua aceste modificări, a fost calculată deplasarea medie pătratică (RMSD) a β-CD libere, în absența PCZH-NO_3, atât în sisteme cu solvent pur, cât și în amestecuri DMSO/apă. Rezultatele sunt prezentate în **Figura II.1.2**. Valorile RMSD ale tuturor atomilor din β-CD nu prezintă variații semnificative la diferite rapoarte DMSO/apă: 0,11 ± 0,027 nm în apă pură, 0,11 ± 0,022 nm în DMSO pur, 0,12 ± 0,026 nm la 5 % v/v, 0,11 ± 0,023 nm la 10 % v/v, 0,097 ± 0,019 nm la 20 % v/v, 0,11 ± 0,023 nm la 35 % v/v și 0,10 ± 0,023 nm la 50 % v/v în amestecuri DMSO/apă. Valorile scăzute ale RMSD în toate sistemele de solvent sugerează rigiditatea structurală a β-CD, o condiție necesară pentru mecanismul de complexare selectivă.

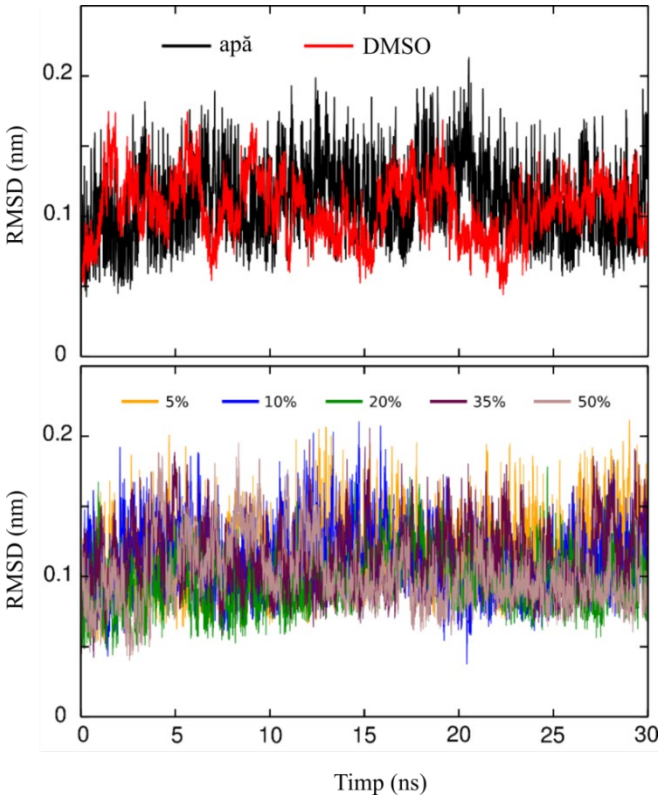


Figura II.1.2. Variația RMSD a atomilor de β-CD în prezența solventului pentru 30 de ns de simulare MD în apă pură (negru) și DMSO (roșu) și în amestec DMSO/H_2O pentru DMSO cu diferite rapoarte: 5% (galben), 10% (albastru), 20 % (verde), 35 % (mov), and 50 % (roz).

Pentru a investiga modificările structurale locale induse de tipul de solvent, valorile fluctuațiilor rădăcinii medie pătratice (*Root Mean Square Fluctuations*, RMSF) au fost calculate pentru fiecare atom din unitățile de α-D-glucoză. Rezultatele mediate pe cele șapte

subunități glicozidice sunt prezentate în **Figura II.1.3**, unde este indicată și nomenclatura atomilor componenți din monomerul glucopiranozic. Calculele RMSF au fost realizate doar pentru cazurile extreme ale solvenților diferiți puri (apă sau DMSO). Pentru atomii individuali ai β-CD, valorile RMSF sunt mai mici în DMSO decât în apă, deși s-a observat o tendința similară în ambii solvenți. Pentru majoritatea atomilor CD nu s-au observat diferențe semnificative, indicând faptul că fluctuațiile monomerului glucopiranozic nu sunt influențate de alegerea solventului. Totuși, s-au observat fluctuații crescute în unitățile marginale, în special în grupările hidroxil de la pozițiile 2 și 3, cele mai pronunțate fluctuații apărând la poziția 6, atât în apă, cât și în DMSO. Aceste fluctuații rezultă probabil din interacțiuni potențiale cu solventul/cosolventul, precum formarea de legături de hidrogen intermoleculare și din mobilitatea grupei HO atașate de C^6 din afara ciclului glucopiranozic. Valorile RMSF înregistrate în pozițiile 2, 3 și 6 indică o flexibilitate locală crescută în aceste regiuni, în concordanță cu mobilitatea dinamică a grupelor OH, asociată frecvent cu situri expuse solventului sau adaptabile conformațional. Valorile RMSF ridicate ale grupării hidroxil de la poziția 6 reflectă flexibilitatea grupelor -CH_2-OH specifice bazei primare, care influențează modul în care PCZH-NO_3 accesează cavitatea CD din direcția bazei mici.

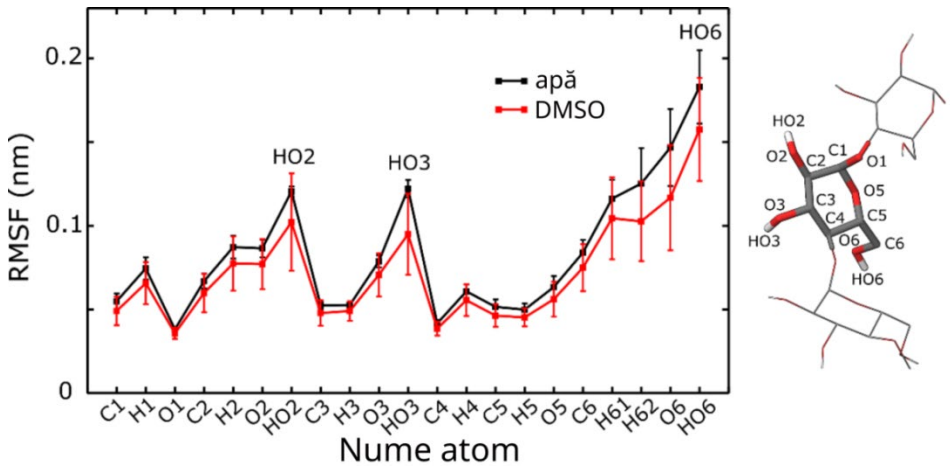


Figura II.1.3. Variațiile RMSF pentru pozițiilor atomice individuale din β-CD, calculate din simulările realizate în solvent pur (apă și DMSO).

Următoarea etapă a analizei a vizat investigarea diferențelor de afinitate dintre moleculele de DMSO și cele de apă pentru cavitatea β-CD, reflectate în timpii de rezidență ai moleculelor de DMSO în interiorul cavității β-CD, care sunt invers proporționali cu rata medie de schimb (ns^{-1}) dintre moleculele de DMSO (rol de oaspete) în interiorul cavității. **Figura II.1.4** arată că moleculele individuale de DMSO intră și ies în mod dinamic din

cavitatea β-CD. Analiza cantitativă a arătat că, la 5 % v/v DMSO, moleculele individuale de DMSO prezintă o rată medie de schimb de 0,19 ns^{-1} în interiorul cavității β-CD. Această rată de schimb crește la 0,27 ns^{-1}, la 50 % v/v DMSO, ce indică timpi de rezidență mai scurți per moleculă, datorită numărului mai mare de molecule de DMSO aflate în competiție. Cavitatea rămâne ocupată predominant pe durata simulărilor, iar intervalele de timp în care nu este ocupată de DMSO corespund în mod constant cu prezența moleculelor de apă. Acest tipar sugerează procese de substituție reciprocă a moleculelor de DMSO în interiorul cavității, care evidențiază o competiție dinamică între solvenți, DMSO prezentând un comportament clar de legare preferențială în toate condițiile de solvent investigate. Datorită naturii dinamice a sistemului, moleculele de DMSO tind să rămână în interiorul cavității β-CD, în schimb reciproc continuu, în timp ce moleculele de apă interacționează preferențial cu molecula gazdă β-CD la exterior, prin legături de hidrogen cu grupările hidroxil libere. Aceste rezultate sugerează că DMSO are o afinitate mai mare pentru β-CD prin complexare. În consecință, între medicamentul PCZH-NO_3 și DMSO există o interacțiune competitivă pentru includerea în cavitatea β-CD.

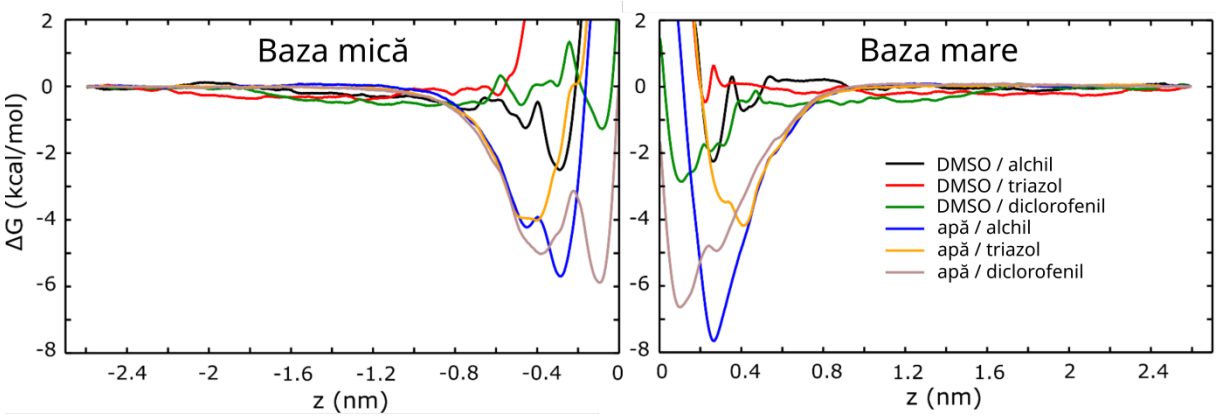


Figura II.1.6. Profiluri PMF ce ilustrează influența geometriei de complexare asupra interacțiunii dintre PCZH-NO_3 ca moleculă oaspete și β-CD ca moleculă gazdă. Panoul din stânga reprezintă complexarea realizată cu PCZH-NO_3 introdus prin baza mică, în timp ce panoul din dreapta reprezintă complexarea cu PCZH-NO_3 introdus prin baza mare, ce evidențiază diferența dintre afinitățile de legare și stabilitatea complexului.

Pentru complexarea prin baza mică, afinitatea de legare în DMSO urmează ordinea: alchil > diclorofenil > triazol, în timp ce în apă ordinea este: diclorofenil ~ alchil > triazol. Procesul de complexare prin baza mică în DMSO urmează un comportament similar cu cel observat pentru complexarea prin baza mare în apă. În mod analog, în apă se observă o

tendință comparabilă, în care afinitatea de legare a PCZH-NO_3 la nivelul marginii mici seamănă cu cea determinată pentru baza mare în DMSO. Acest lucru sugerează că complexarea de echilibru a PCZH-NO_3 în diferite moduri de legare este guvernată de interacțiuni similare cu cele care controlează complexarea prin baza mare. În cazul complexării prin baza mică, grupările hidroxil implicate în formarea legăturilor de hidrogen sunt în principal cele legate de poziția 6. În ansamblu, profilurile PMF din **Figura II.1.6** indică faptul că complexarea moleculei oaspete PCZH-NO_3 cu CD este favorabilă din punct de vedere termodinamic atât pentru interacțiile prin baza secundară, cât și pentru cele prin baza primară, cu o afinitate mai mare pentru baza secundară.

Pentru a evalua cantitativ influența raportului DMSO/H_2O (v/v) asupra afinității de legare, au fost construite profile PMF pentru procesul de complexare la diferite rapoarte de solvent, cuprinse între 5% și 50% DMSO/H_2O (v/v). Rezultatele sunt prezentate în **Figura II.1.7-A**. În această analiză a fost aleasă o singură geometrie de complexare, selectând modul de legare cel mai favorabil prin baza mare în DMSO, în care unitatea diclorofenil este inclusă în cavitatea β-CD (**Figura II.1.6**). Conform profilurilor PMF prezentate în **Figura II.1.7-A**, interacțiunea dintre PCZH-NO_3 și CD este cea mai favorabilă la 5% DMSO/H_2O (v/v), cu o valoare ΔG de aproximativ -6,1 kcal/mol, și cea mai puțin favorabilă la 50 % DMSO/H_2O (v/v), cu o valoare ΔG de aproximativ -2,85 kcal/mol. Rezultatele indică faptul că DMSO, ca și cosolvent, joacă un rol semnificativ în procesul de complexare, reducând treptat energia liberă de legare pe măsură ce raportul DMSO/H_2O (v/v) crește.

Pe baza rezultatelor calculelor PMF prezentate în **Figura II.1.6** și **Figura II.1.7-A**, a fost construit un profil al energiei libere globale din procesul de complexare în funcție de raportul DMSO/apă, prezentat în **Figura II.1.7-B**. Calculele teoretice indică faptul că prezența cosolventului DMSO indică în continuare complexarea PCZH-NO_3 cu β-CD, cu efecte minore la concentrații scăzute, de până la 10% DMSO/H_2O (v/v). Totuși, la concentrații care depășesc 50% DMSO/H_2O (v/v), formarea complexului este mai puțin favorabilă, deoarece DMSO, la aceste concentrații, reduce energia liberă de complexare la aproximativ -3 kcal/mol.

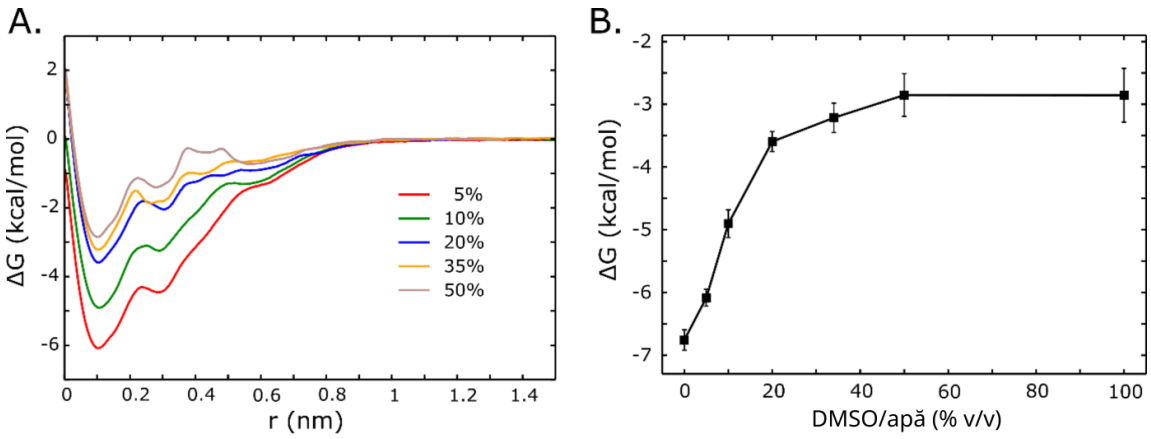


Figura II.1.7. Reprezentare a: A. profilurilor de energie liberă Gibbs pentru diferite amestecuri de DMSO/apă (5% - 50%) a complexului PCZH-NO_3/CD și B. energiei libere Gibbs de complexare relativă pentru diferite rapoarte de DMSO/H_2O.

Formarea complexului în solvenții studiați a fost urmărită prin variațiile deplasărilor chimice ale unor protoni specifici, atât din molecula gazdă, cât și din cea oaspete. La formarea complexului de incluziune, protonii interni ai CD (H-3′ și H-5′) prezintă deplasări spre câmp mai înalt, ca urmare a efectelor de anizotropie magnetică generate de molecula inclusă. În acest caz, formarea complecșilor de incluziune a fost confirmată și prin modificările deplasărilor chimice ale protonilor aromatici ai PCZH-NO_3.

Spectrul ^{1}H-RMN al PCZH-NO_3 liber/necomplexat (**Figura II.1.8-B**) evidențiază semnale corespunzătoare a doi diastereoizomeri, în concordanță cu datele raportate anterior, într-un raport de 1:2, determinat pe baza valorilor integrale.

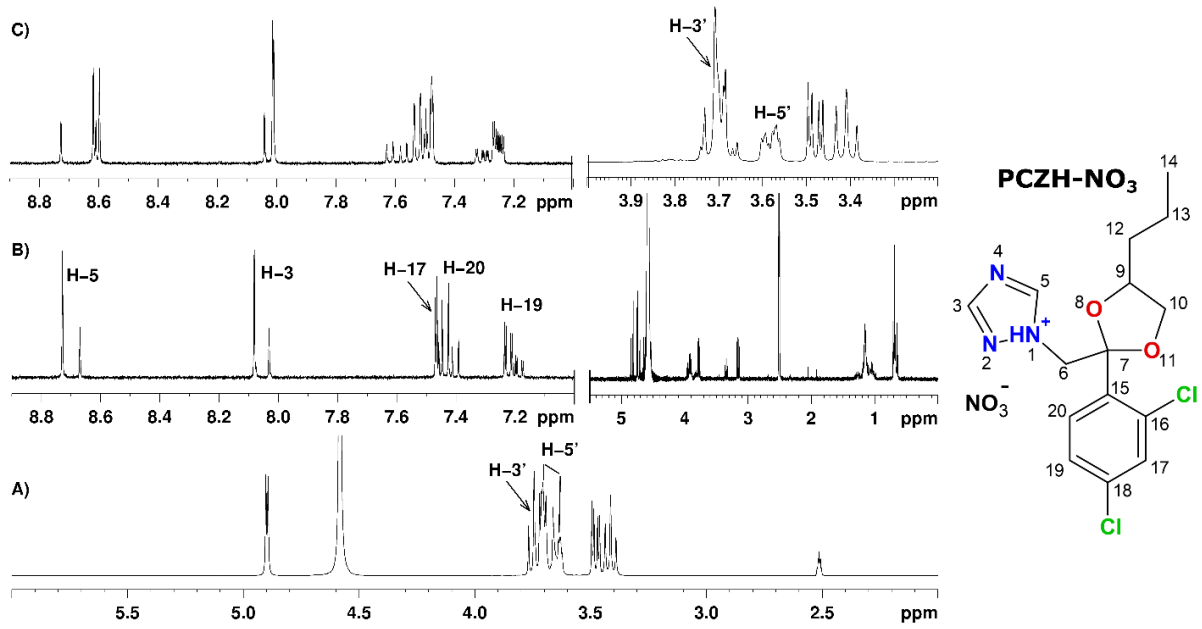


Figura II.1.8. Spectrul ^{1}H-NMR al β-CD (A), PCZH-NO_3 (B) și complexul de incluziune β-CD/PCZH-NO_3 (C), înregistrat în amestec 95:5 (v:v) între D_2O:DMSO, alături de structura chimică a PCZH-NO_3 (dreapta).

Din graficele ilustrate în **Figura II.1.8** se observă modificări ale frecvențelor de rezonanță pentru protonii interni H-3′ și H-5′ ai β-CD, precum și pentru protonii aromatici ai inelelor triazolic (H-3 și H-5) și 2,4-diclorofenilic (H-17, H-19 și H-20) din PCZH-NO_3, în funcție de combinația de solvenți utilizată. Variațiile deplasărilor chimice ale protonilor alifatici din PCZH-NO_3 nu au putut fi urmărite din cauza multiplicității complexe a semnalelor, generate de cuplajele scalare. După cum se poate observa, diferențele de deplasare chimică depind de procentul de cosolvent DMSO adăugat. Curbele de perturbare a deplasărilor chimice în funcție de procentul de DMSO pentru protonii H-3 și H-5 ai β-CD sunt prezentate în **Figura II.1.9**.

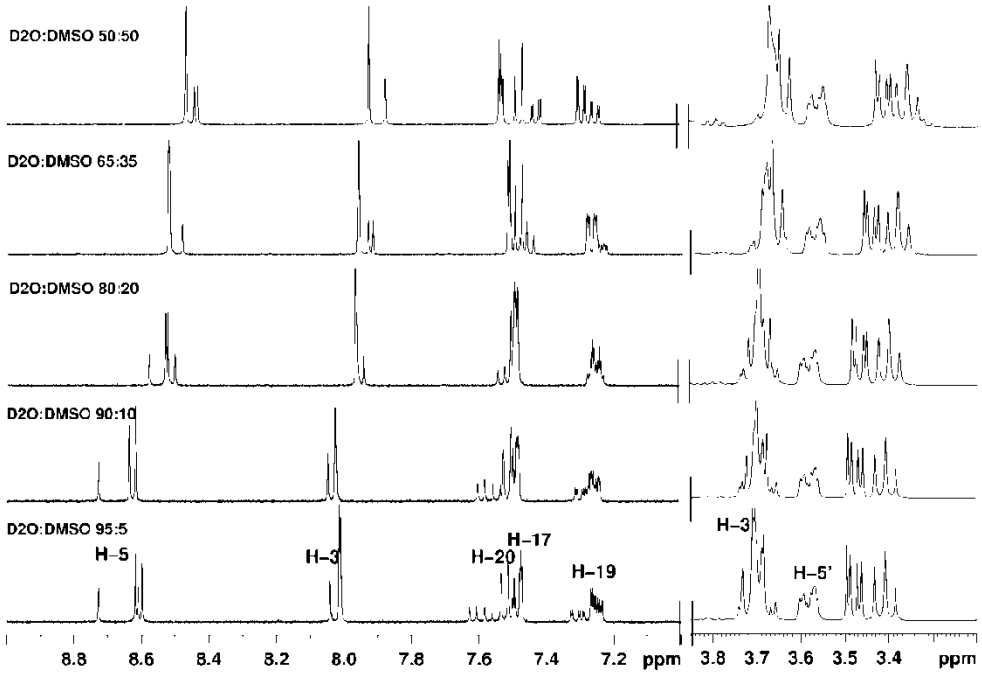


Figura II.1.9. Spectrele ^{1}H-NMR ale complexului de incluziune β-CD/ PCZH-NO_3 care arată variațiile în deplasarea chimică și scindările spectrale în funcție de procentul de DMSO.

II.1.4. Concluzii

Aceast studiu oferă o analiză amplă a formării complecșilor de incluziune dintre β-CD și PCZH-NO_3, un derivat triazolic cu activitate antifungică, în diferite medii de solvent, combinând simulări MD cu spectroscopia RMN. Rezultatele evidențiază rolul esențial al

compoziției solventului și arată că DMSO prezintă o preferință pronunțată pentru interacțiunea cu cavitatea β-CD comparativ cu apa, chiar și la rapoarte scăzute dintre DMSO și apă. Datele obținute arată faptul că DMSO se află în competiție atât cu apa, cât și cu medicamentul pentru ocuparea cavității CD, iar simulările MD au permis analiza în detaliu a acestei competiții. Rezultatele teoretice arată că formarea complexului de incluziune este influențată semnificativ de compoziția solventului, cu o preferință pentru DMSO în interiorul cavității CD.

Datele RMSF și RDF obținute au arătat că interacțiunile hidrofobe și legăturile de hidrogen sunt factorii determinanți pentru stabilizarea acestor complecși. În plus, calculele PMF au confirmat suplimentar caracterul energetic favorabil al complexării, în special în amestecuri cu concentrații mici de DMSO, unde afinitățile de legare sunt cele mai ridicate. Spectrele ^{1}H-RMN și ROESY au oferit validare experimentală, evidențiind variații ale deplasărilor chimice și discriminare chirală în cadrul complecșilor de incluziune. Aceste observații experimentale sunt în bun acord cu predicțiile teoretice, susținând suplimentar interacțiunea dinamică dintre solvenți în controlul procesului de complexare.

Datele obținute oferă o înțelegere a efectului de cosolvatare prin competiția dintre DMSO și apă pentru includerea PCZH-NO_3 în CD, oferind informații la scară atomică asupra mecanismului care guvernează dinamica gazdă-oaspete. În ansamblu, aceste rezultate furnizează perspective valoroase asupra formării complecșilor de incluziune CD în amestecuri de solvenți, cu implicații importante pentru utilizarea acestora în sisteme de livrare a medicamentelor foarte insolubile. Concluziile subliniază importanța mediului de solvent pentru optimizarea formulărilor pe bază de CD în funcție de molecula oaspete (medicament) vizată.

II. 2. COMPLECȘI DE INCLUZIUNE L-2-OXOTIAZOLIN-4-CARBOXILAT DE 2,6-DIAMINO-1-N-HIDROXI-4-(PIRROLIDIN-1'-IL)-PIRIMIDIN-1-IU (MPPC)/β-CD: ROLUL IONILOR ORGANICI

Studiul asupra Minoxicapilului a urmărit îmbunătățirea proprietăților principiului activ MPPC, utilizat pentru stimularea creșterii părului și tratarea alopeciei (Tirnovan, Isac, Marangoci, et al., 2026). Cercetarea a fost motivată de solubilitatea redusă a MPPC în apă și de riscul de iritație asociat utilizării etanolului sau a surfactanților în formulările topice. Pentru depășirea acestor limitări, a fost analizată formarea unui complex de incluziune între MPPC și β-ciclodextrină. **Scopul studiului** a fost determinarea selectivității, stabilității și naturii interacțiunilor intermoleculare implicate în complexarea MPPC cu β-ciclodextrina, cu accent pe rolul distinct al cationului și al anionului. Pentru identificarea speciei incluse și a orientării sale preferențiale, au fost utilizate metode complementare de andocare moleculară, dinamică moleculară, calcule de energie liberă și spectroscopie RMN.

Contribuția originală constă în elucidarea mecanismului de complexare selectivă a componentei cationice a MPPC și în caracterizarea interacțiunilor care stabilizează asocierea gazdă-oaspete. Corelarea rezultatelor teoretice cu datele RMN a permis identificarea unui mod de incluziune parțială, în care fragmentul pirrolidinic pătrunde în cavitatea hidrofobă a β-ciclodextrinei, iar fragmentul pirimidinic rămâne expus mediului exterior. Anionul nu formează o incluziune stabilă în condițiile investigate.

Rezultatele obținute susțin formarea unui complex cu raport de asociere 1:1 și o preferință pentru orientarea directă a cationului. Asocierea prezintă o stabilitate moderată și un caracter reversibil, fiind susținută de interacțiuni hidrofobe și de legături de hidrogen. În condițiile experimentale analizate, atât MPPC liber, cât și complexul MPPC/β-ciclodextrină au prezentat o biocompatibilitate favorabilă. În plus, complexarea a favorizat proliferarea celulelor papilei dermice foliculare umane la concentrații de MPPC mai mici decât cele necesare în cazul substanței libere.Aceste rezultate oferă o bază mecanistică și experimentală pentru utilizarea complexării cu β-ciclodextrină ca strategie de optimizare a formulărilor farmaceutice pe bază de principii active cu structură ionică.

II.2.3. Rezultate și discuții

II.2.3.1. Rezultate teoretice și discuții

Studiul andocării moleculare

Din studiul de andocare moleculară rezultă că cel mai stabil mod de legare apare atunci când inelul de pirrolidină interacționează cu baza mare/secundară a β-CD. În această configurație, cationul (2,6-diamino-1-hidroxi-4-(pirrolidin-1-il)pirimidiniu) adoptă o orientare directă, cu inelul de pirrolidină hidrofob situat în interiorul cavității, iar inelul de pirimidină, mai hidrofil, poziționat în exterior (**Figura II.2.2-a/d**). În sistemul prezentat în **Figura II.2.2-f**, structura cea mai favorabilă corespunde unui complex 2:2 (doi cationi și două molecule de β-CD), care, în ansamblu, păstrează totuși o stoichiometrie efectivă de 1:1. Efectul anionului asupra complexării a fost de asemenea evaluat prin energia de legare. Nu au fost observate diferențe semnificative între complexarea anion-β-CD și asocierea anionului cu cationii deja incluși în β-CD (**Figura II.2.2-b-i**). Pozițiile obținute din studiul de andocare indică faptul că protonii de pe inelul hidrofob sunt apropiați de protonii H-3 și H-5 din interiorul cavității β-CD. În plus, grupările NH_2 interacționează cu grupările hidroxil secundare de la baza mare a β-CD (**Figura II.2.2-a/c-g**). Pentru complecșii care conțin atât cationul, cât și anionul (L-2-oxotiazolidin-4-carboxilat), ionii formează o structură de tip pereche ionică suprapusă, în care cationul este inclus în β-CD, iar anionul rămâne în afara cavității (**Figura II.2.2-c/d**). Dintre sistemele simulate, complexul cation-β-CD prezintă cea mai mică energie de interacțiune, în timp ce complexul anion-β-CD prezintă cea mai mare. Acest lucru indică faptul că sistemul cation-β-CD este mai stabil decât complexul anion-β-CD.

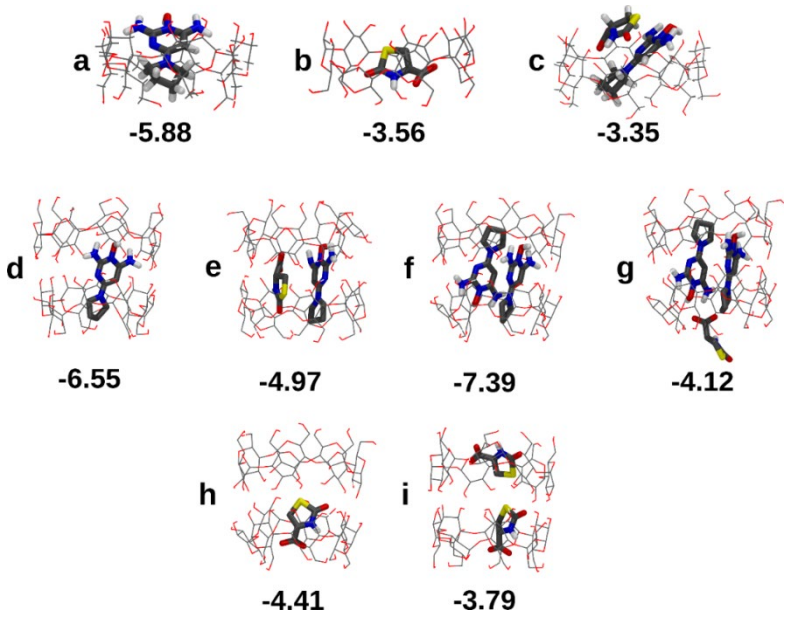


Figura II.2.2. Reprezentare grafică a complexului MPPC cu β-CD în diferite aranjamente obținute prin calcule de andocare: a) cation-β-CD (1:1), b) anion-β-CD (1:1), c) anion + cation-β-CD (1:1), d) cation-β-CD (1:2), e) anion + cation-β-CD (1:2), f) cation-β-CD

(2:2), g) anion + cation-β-CD (2:2), h) anion-β-CD (1:2), i) anion-β-CD (2:2). Energia de legare este exprimată în kcal/mol.

Dinamică moleculară

În simularea MD realizată în prezența ambilor ioni, s-a observat o includere mai rapidă a anionului în cavitatea β-CD, înaintea cationului, datorită dimensiunii sale mai mici, până în jurul valorii de 700 ns, moment în care are loc un schimb între perechea ionică, cationul rămânând în interiorul cavității pentru restul simulării, până la 2000 ns (**Figura II.2.6**). Comparativ cu simularea anterioară (cu anioni Cl^-), nu s-a mai observat schimbul cationilor în interiorul β-CD, ceea ce indică faptul că anionul favorizează formarea unui complex de incluziune mai stabil.

În același timp, s-a format și un agregat liber cu celelalte molecule din sistem (**Figura II.2.7**), localizat predominant la baza secundară a cavității, în concordanță cu solubilitatea mai redusă în apă observată experimental și cu aranjamentul obținut prin andocare (**Figura II.2.2-c/d**). Acest agregat este responsabil pentru includerea mai lentă a cationului în cavitatea β-CD pe parcursul simulării și manifestă un caracter mai puțin tranzient, comparativ cu aranjamentele din **Figura II.2.5.**

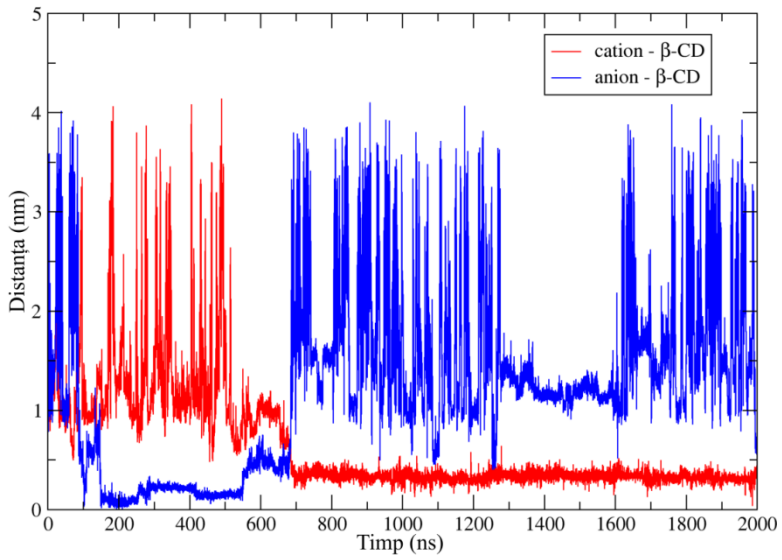
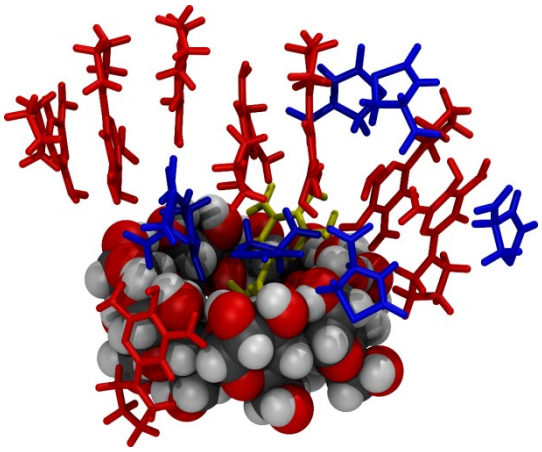


Figura II.2.6. Profiluri de distanță dintre cationul și anionul MPPC și β-CD pe parcursul simulării de dinamică moleculară pentru un timp de 2000 de ns.

Figura II.2.7. Reprezentarea sistemului agregat la finalul simulării de MD cu diferite particularități: Culori: cationi MPPC - roșu, anioni MPPC - albastru, cation în interiorul β-CD - galben, iar suprafața van der Waals a β-CD este reprezentată în culorile de bază.



Metoda eșantionării de tip umbrelă

Rezultatele obținute prin metoda eșantionării de tip „umbrelă" arată că valoarea minimului de energie liberă este mai scăzută atunci când cationul MPPC este orientat direct în β-CD, cu fragmentul pirolidinic în interiorul cavității CD și ciclul pirimidinic orientat spre baza mare/secundară (**Figura II.2.12-a**), comparativ cu orientarea inversă (**Figura II.2.12-b**). Acest rezultat indică o preferință mai mare de complexare a cationului în orientare directă față de cea inversă.

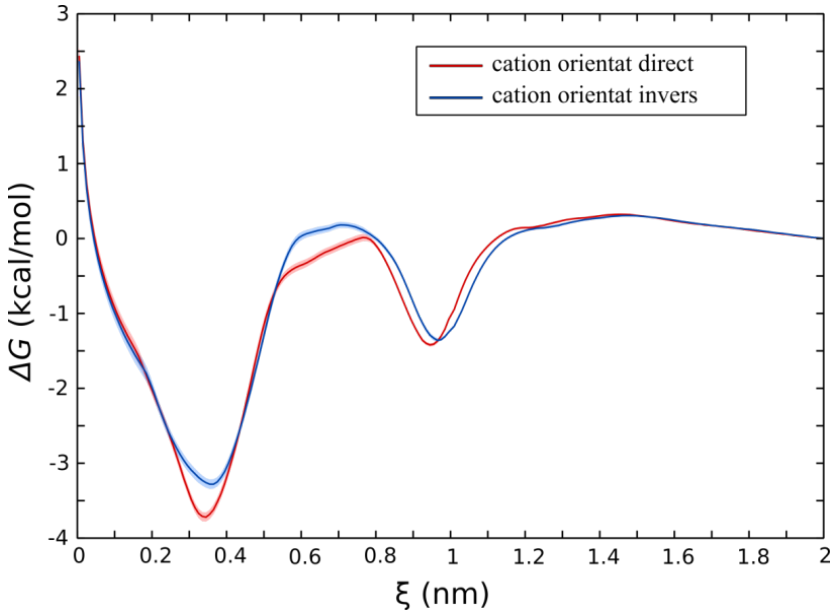


Figura II.2.11. Profiluri de energie liberă medie reprezentate cu deviații standard (contur transparent) pentru cationul MPPC orientat direct și invers în interacțiune cu β-CD.

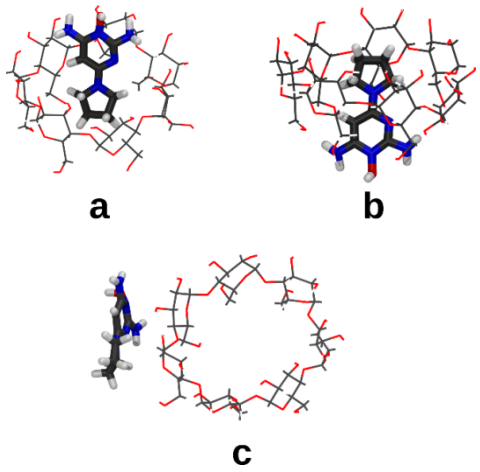


Figura II.2.12. Structurile complexului β-CD/MPPC obținute pentru minimele ΔG din calculele de PMF.

Orientarea directă a cationului MPPC prezintă un minim de energie liberă mai scăzut (ΔG ≈ -3.72 Kcal/mol) pentru valoarea ξ ≈ 0,32 nm (**Figura II.2.11** și **Figura II.2.12-a**), comparativ cu orientarea inversă (ΔG ≈ -3.28 kcal/mol), ilustrată în **Figura II.2.11** și în complexul din **Figura II.2.12-b**. Acest rezultat arată că orientarea directă, în care ciclul pirolidinic se află în interiorul cavității și cel pirimidinic orientat spre baza mare este mai favorabilă în sistem. Un alt minim secundar de energie liberă este observat la ξ ≈ 1 nm și menține o valoare apropiată pentru ambele profile PMF (ΔG ≈ -1.4 kcal/mol), ce reprezintă cationul MPPC care se află aproape de suprafața exterioară a β-CD (așa cum se observă în **Figura II.2.12-c**), aspect observat și din simulările MD. Valoarea este comparabilă cu cea a primului minim din orientarea inversă, ceea ce reduce adițional preferința cationului pentru această conformație în complex, din cauza competiției dintre stări.

De asemenea, interacțiunile intermoleculare dintre grupele β-CD-OH și MPPC-NH_2 au rol stabilizator al orientării directe a cationului MPPC în β-CD (**Figura II.2.12-a**). Pe de altă parte, diametrul ciclului pirimidinic cu cele două grupe NH_2 atașate duce la împiedicări sterice accentuate în interacțiunea cu grupele hidroxil primare ale bazei mici a β-CD, ce explică conformația mai puțin stabilă a cationului MPPC orientat invers (**Figura II.2.12-b**), și o probabilitate mai mică de existență a acesteia în sistem, cu o intrare a cationului îngreunată cu această orientare în β-CD.

Atât în aranjamentul a), cât și în b) (**Figura II.2.12**) cationul MPPC nu pătrunde complet în cavitatea β-CD. În β-CD este inclus doar ciclul pirolidinic, care conține atomi de carbon sp^3 hidrofobi, care intră în interiorul cavității, ce prezintă interacțiuni hidrofobe slabe de tip van der Waals cu protonii H-3 și H-5. Ciclul pirimidinic, cu caracter hidrofil, rămâne

orientat în exteriorul β-CD, unde interacționează cu solventul și cu grupările hidroxil de pe baza primară sau secundară prin legături de hidrogen.

II.2.2.2. Rezultate experimentale și discuții

Spectroscopia RMN a fost utilizată drept principala metodă de analiză pentru investigarea caracteristicilor structurale ale formulării MPPC și pentru confirmarea interacțiunii cu β-CD. Toate experimentele RMN au fost realizate la temperatură controlată, folosind tehnici standard de corelație mono- și bidimensională, homo- și heteronucleară, care au permis atribuirea fără ambiguități a semnalelor și identificarea interacțiunilor gazdă-oaspete. O atenție deosebită a fost acordată compoziției solventului și condițiilor experimentale, pentru a păstra grupările funcționale labile și a asigura reproductibilitatea spectrelor. În special, experimentele ROESY au fost utilizate pentru a evidenția proximitățile spațiale dintre cavitatea β-CD și cationul MPPC, oferind dovezi directe ale formării complexului de incluziune.

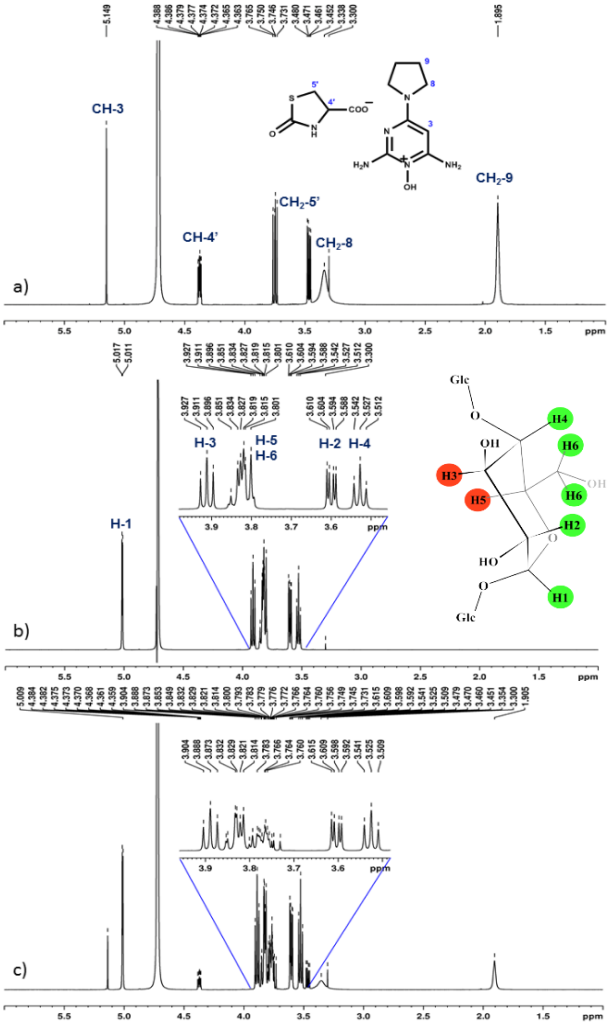


Figura II.2.14. Spectrul RMN de protoni, înregistrat cu suprimarea semnalului rezidual al apei asociat cu: a) formularea nativă MPPC, b) β-CD și c) amestec MPPC-β-CD. Spectrul a fost înregistrat în aceleași condiții experimentale la frecvența de 600 de MHz.

Al doilea parametru utilizat pentru a evalua gradul de legare intermoleculară dintre MPPC și β-CD este constanta de asociere (K_a). Valoarea acesteia poate fi determinată prin titrare ^{1}H-RMN, folosind un set diferit de soluții și un algoritm distinct față de metoda variației continue. Au fost preparate soluții stoc apoase (90% H_2O și 10% D_2O) de β-CD 15 mM și MPPC 300 mM, utilizate ulterior pentru obținerea a 13 probe cu concentrații variabile de β-CD (între 0 și 15 mM). Concentrația de MPPC a fost menținută constantă la 3 mM pe întreaga serie de probe. Spectrele RMN de proton au fost înregistrate în condiții experimentale identice, cu suprimarea semnalului dominant al apei, iar diferențele de deplasare chimică dintre cele 13 probe au fost monitorizate. Pentru determinarea constantei de asociere s-a utilizat forma RMN a ecuației Benesi-Hildebrand (Fielding, 2000), urmărindu-se variațiile deplasării chimice ale protonului CH_2-9 din gruparea pirimidinică a cationului de MPPC:

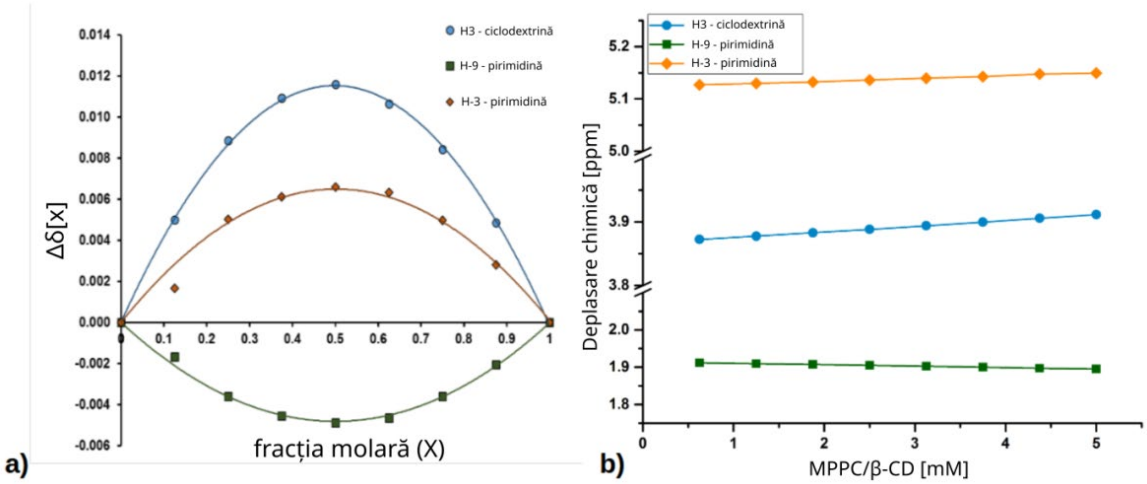


Figura II.2.18. a) Diagrame Job obținute din titrările RMN, care indică o stoechiometrie 1:1 pentru amestecul β-CD/MPPC. Au fost urmărite trei tipuri de protoni: H-3 din β-CD, respectiv H-3 și H-9 din gruparea pirimidinică. b) Variațiile deplasărilor chimice în funcție de concentrațiile de MPPC sau β-CD, asociate protonilor monitorizați, utilizate pentru construirea diagramelor Job.

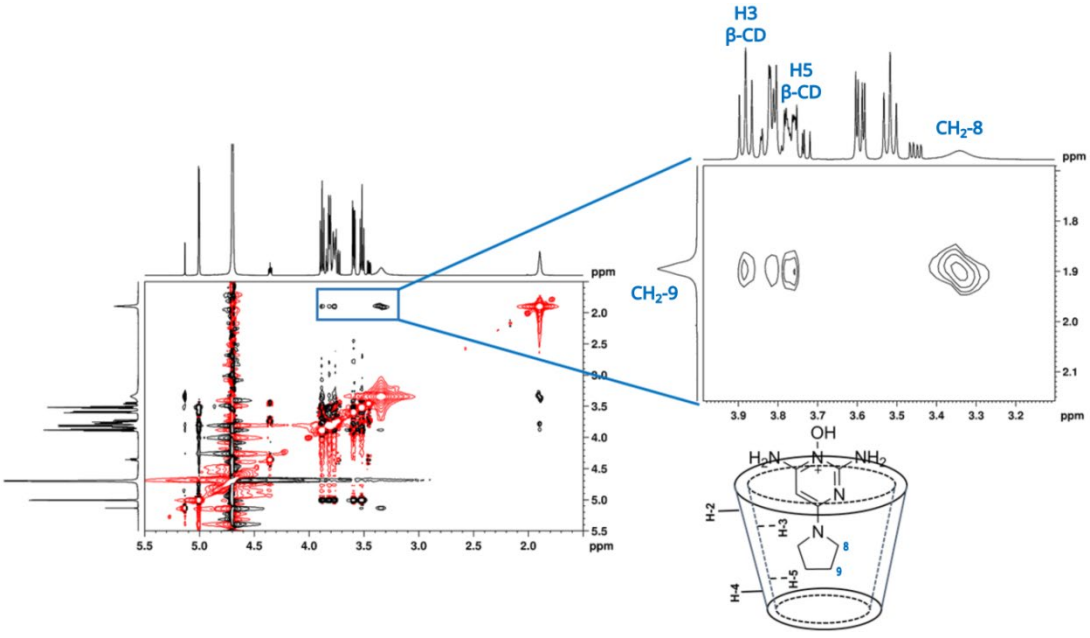


Figura II.2.20. Spectrul ^{1}H, ^{1}H-ROESY bidimensional pentru un raport 1:1 de amestec β-CD-MPPC, ce arată semnalele de corelație NOE între gazdă și oaspete. În dreapta jos este reprezentată geometria propusă a cationului MPPC în interiorul β-CD în soluție.

II.2.4. Concluzii

Interpretarea rezultatelor teoretice în tandem cu datele RMN duce către aceeași concluzie. Cationul MPPC este specia inclusă pe jumătate în complexul gazdă-oaspete, cu inelul pirolidinic al cationului orientat spre interiorul cavității hidrofobe a β-CD, în timp ce anionul nu prezintă o incluziune stabilă, din cauza mobilității sale ridicate în soluție și a volumului molecular mai redus. Calculele de tip „umbrelă" arată că orientarea directă este mai favorabilă (cu primul minim PMF aflat la aproximativ −3.72 kcal/mol), comparativ cu orientarea inversă.

Din diagramele Job obținute prin titrările RMN, a rezultat un complex de incluziune cu raport 1:1 între β-CD și cationul MPPC, cu o constantă de asociere $K_a = 76\ M^{-1}$ (≈ −2,57 kcal/mol), valoare caracteristică unui sistem gazdă-oaspete moderat stabil și reversibil, apropiată de valoarea PMF determinată teoretic.

În condițiile experimentale testate, atât MPPC liber, cât și MPPC complexat au prezentat o permeație redusă în faza receptor în studiile de difuzie Strat-M® și o biocompatibilitate in vitro favorabilă în celulele papilei dermice foliculare umane, evaluată prin testul de viabilitate celulară EZ-Cytox WST-1.

Aceste rezultate stabilesc baza mecanistică și experimentală a complexării MPPC-β-CD și susțin investigarea ulterioară a acestui sistem în cercetări viitoare privind formulările topice, cu accent pe ciclodextrine substituite cu afinitate de legare crescută și pe validarea in vivo a activității biologice, plus analiza eliberării controlate în sisteme de solvenți apropiate mediului fiziologic.

Privite împreună, cele două studii evidențiază faptul că mecanismul de incluziune în β-ciclodextrină este determinat atât de compoziția mediului de reacție, cât și de particularitățile structurale și ionice ale moleculei oaspete. Contribuția capitolului II constă în elucidarea a două mecanisme complementare: competiția cosolvent-oaspete pentru cavitate și selectivitatea incluziunii unei componente a unei formulări ionice. Aceste rezultate susțin necesitatea evaluării explicite a solventului și a tuturor speciilor prezente în sistem atunci când se urmărește optimizarea complecșilor de incluziune pentru aplicații farmaceutice.

CAPITOLUL III. SISTEME MOLECULARE CU POTENȚIAL ÎN TRANSPORTUL MEDICAMENTELOR: STUDII *IN SILICO* PRIVIND INFULENȚA MODELULUI DE SOLVATARE ASUPRA LCST A POLIMERILOR SENSIBILI LA STIMULI PE BAZĂ DE PNIPAM

Studiul a urmărit comportamentul termoresponsiv al poli(N-izopropilacrilamidei), PNIPAM, un polimer cu potențial în transportul și eliberarea controlată a medicamentelor. PNIPAM prezintă o temperatură critică inferioară de solubilitate, numită LCST, în apropierea căreia trece de la o conformație extinsă la una compactă.

Scopul cercetării a fost identificarea condițiilor de simulare care permit reproducerea cât mai fidelă a tranziției conformaționale a PNIPAM observate experimental în apropierea temperaturii critice inferioare de solubilitate (LCST). Prin simulări de dinamică moleculară, au fost comparate sisteme cu unul și zece lanțuri polimerice, utilizând modelele de apă TIP3P, SPC/E și TIP4P-Ew. Analiza a urmărit influența acestor parametri asupra hidratării, compactării și evoluției legăturilor de hidrogen în funcție de temperatură.

Contribuția originală constă în caracterizarea influenței variate a modelului de apă și a numărului de lanțuri asupra descrierii tranziției conformaționale. Studiul evidențiază rolul interacțiunilor dintre lanțuri în stabilizarea conformațiilor compacte și identifică legăturile de hidrogen de tip punte drept cel mai sensibil descriptor al tranziției dintre cei analizați.

Rezultatele obținute arată că ambele tipuri de sisteme reproduc calitativ comportamentul termoresponsiv al PNIPAM, însă sistemul cu zece lanțuri atinge mai rapid echilibrul și prezintă o compactare mai stabilă. Interacțiunile dintre lanțuri favorizează formarea unei structuri mai dense, cu acces redus al apei, iar legăturile de hidrogen de tip punte prezintă modificări pronunțate în apropierea LCST. Dintre condițiile investigate, combinația dintre sistemul cu zece lanțuri și modelul de apă TIP4P-Ew oferă cea mai clară descriere a tranziției, localizată la aproximativ 305 K. Aceste rezultate furnizează repere metodologice pentru alegerea condițiilor de simulare a sistemelor PNIPAM și constituie un punct de plecare pentru investigarea unor structuri funcționalizate sau asociate cu principii active, cu potențial în eliberarea controlată a medicamentelor.

III.3. Rezultate și discuții

Tranziția solubilă-insolubilă a polimerului PNIPAM, ce este însoțită de o tranziție conformațională de tip extinsă-colapsată, a fost analizată prin următoarele metode: raza de

giratie; legăturile de hidrogen; prin numărul de legături polimer-apă; polimer-polimer și legături de hidrogen de tip punte; numărul de molecule de apă din primul strat de hidratare al polimerului. Punctul LCST a fost identificat ca temperatura corespunzătoare a celei mai pronunțate inflexiuni/discontinuități în variația acestor descriptori.

Seriile de timp indică fluctuații care cresc în amplitudine de la 210 K la 305 K și devin mai frecvente de la 305 K la 400 K, cu excepția modelului SPC/E (**Figura III.5**). Cel mai probabil, aceste fluctuații sunt determinate de mișcarea termică, care se intensifică odată cu creșterea temperaturii și contracarează interacțiunile colective care induc colapsul polimerului. Raza de giratie prezintă cele mai mari valori, cu variații mici, la 210 K, indicând conformații alungite stabile. La 305 K și 400 K, aceasta fluctuează semnificativ între aproximativ 18 Å și 8 Å, această din urmă valoare corespunzând stării colapsate. Acest comportament indică o reversibilitate microscopică a colapsului polimeric, prin tranziții repetate între conformațiile alungite și colapsate. În ciuda acestor fluctuații, PNIPAM prezintă o tendință generală de evoluție către o stare colapsată, evidențiată prin scăderea valorilor medii ale R_g odată cu creșterea temperaturii (**Figura III.6**). Pe măsură ce temperatura crește de la 210 K la 305 K, polimerul solvatat în modelul de apă TIP4P-Ew prezintă cel mai ridicat grad de colaps. La încălzirea ulterioară până la 400 K (+95 K peste LCST), acesta rămâne relativ stabil, în timp ce polimerii solvatați în modelele de apă TIP3P și SPC/E continuă să prezinte un colaps suplimentar.

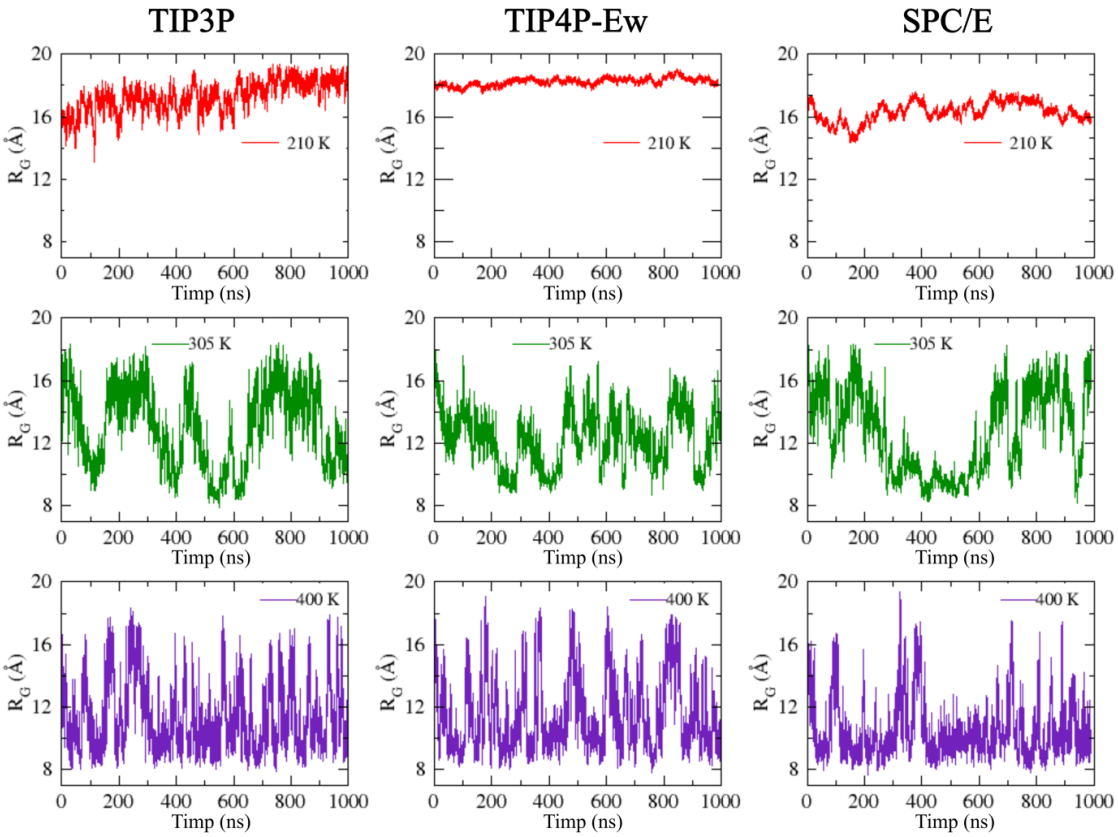


Figura III.5. Raza de girație a unui lanț PNIPAM, pe întreaga durată de simulare de 1000 ns.

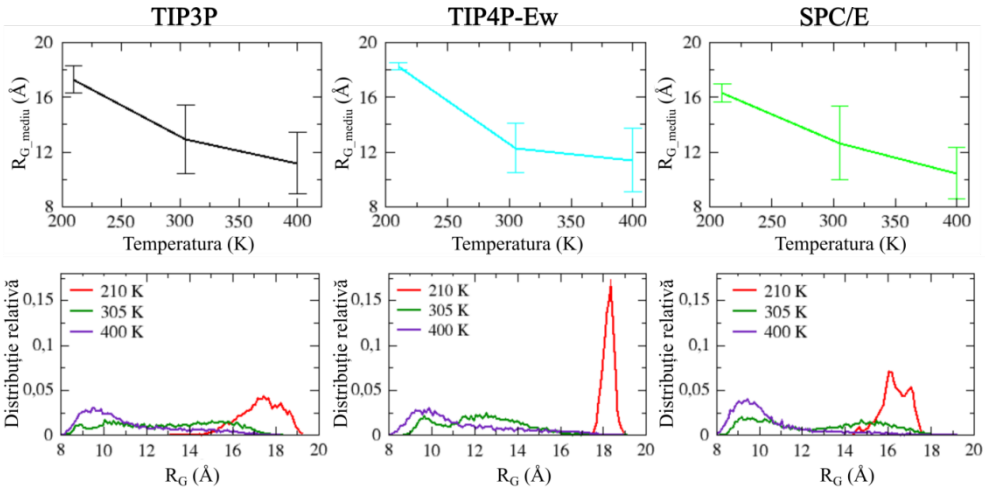


Figura III.6. Variația valorii medii a razei de girație în funcție de temperatură (primul rând) și distribuțiile relative ale acesteia (al doilea rând) pentru un lanț PNIPAM, pe întreaga durată de simulare de 1000 ns.

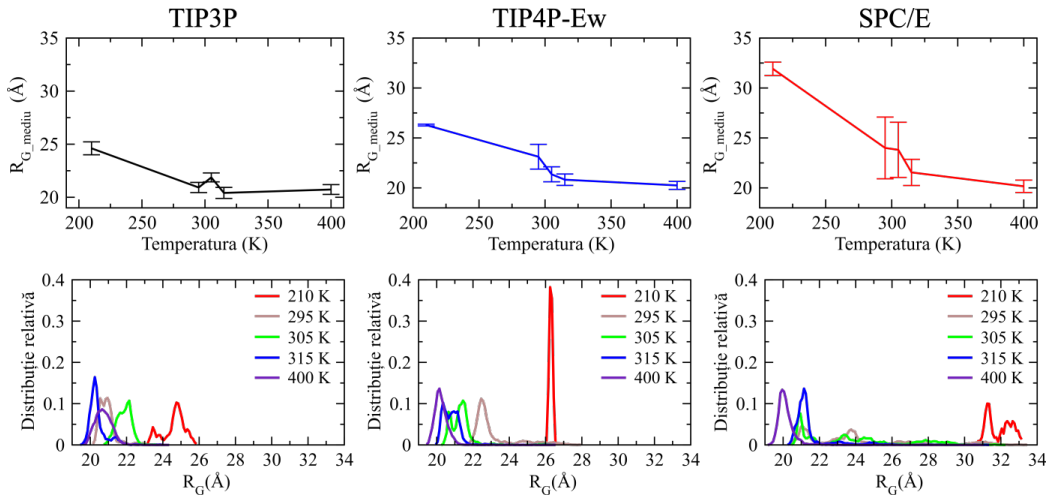


Figura III.10. Variația valorii medii a razei de girație în funcție de temperatură (primul rând) și distribuțiile relative ale acesteia (al doilea rând), pentru zece lanțuri PNIPAM, pe întreaga durată de simulare de 1000 ns.

Pentru toate modelele de apă, valoarea medie a R_g scade odată cu creșterea temperaturii, indicând o tendință generală de compactare. Influența modelelor de apă se reflectă în gradul de compactare al sistemului polimeric (25% pentru SPC/E, ~18% pentru TIP4P-Ew, ~11% pentru TIP3P) și în comportamentul acestuia în proximitatea punctului de tranziție; modelul TIP3P induce discontinuități notabile, urmate de o ușoară creștere a R_g până la 400 K, atribuită fluctuațiilor termice puternice pe care TIP3P nu le amortizează suficient.

Modelele TIP4P-Ew și SPC/E prezintă cele mai pronunțate discontinuități la 305 K, respectiv la 295 K, după care, în cazul TIP4P-Ew, R_g atinge un platou, indicând o stare compactă stabilă până la 400 K, în timp ce pentru SPC/E se observă o ușoară compactare suplimentară peste această temperatură. Distribuțiile relative ale razei de girație (**Figura III.10**), evaluate de asemenea cu o mărime a ferestrei de 0,1 Å, susțin observațiile anterioare. Modelul TIP4P-Ew prezintă cel mai îngust și mai intens vârf la 210 K, reflectând o stare foarte stabilă. La temperaturi mai ridicate, TIP4P-Ew distinge în mod unic regimul de la 295 K de cele de la 305 K și peste, în timp ce distribuțiile suprapuse indică persistența unor conformații compacte stabile. Toate aceste observații indică 305 K ca temperatură de tranziție.

Analiza legăturilor de hidrogen polimer-solvent

Pentru sistemul care conține zece lanțuri PNIPAM, numărul legăturilor de hidrogen polimer-apă scade odată cu creșterea temperaturii (**Figura III.15**). Se observă diferențe ușoare între modelele de apă, reflectate în principal în numărul legăturilor de hidrogen

polimer-polimer și dincolo de punctul de tranziție: cel mai mic număr este obținut pentru modelul de apă TIP3P, în timp ce cel mai mare este observat pentru TIP4P-Ew, sugerând o stabilitate crescută a stratului de hidratare la depășirea temperaturii de tranziție. Aceste rezultate confirmă că numărul legăturilor de hidrogen polimer-apă este influențat doar ușor de alegerea modelului de apă, în principal la nivel cantitativ.

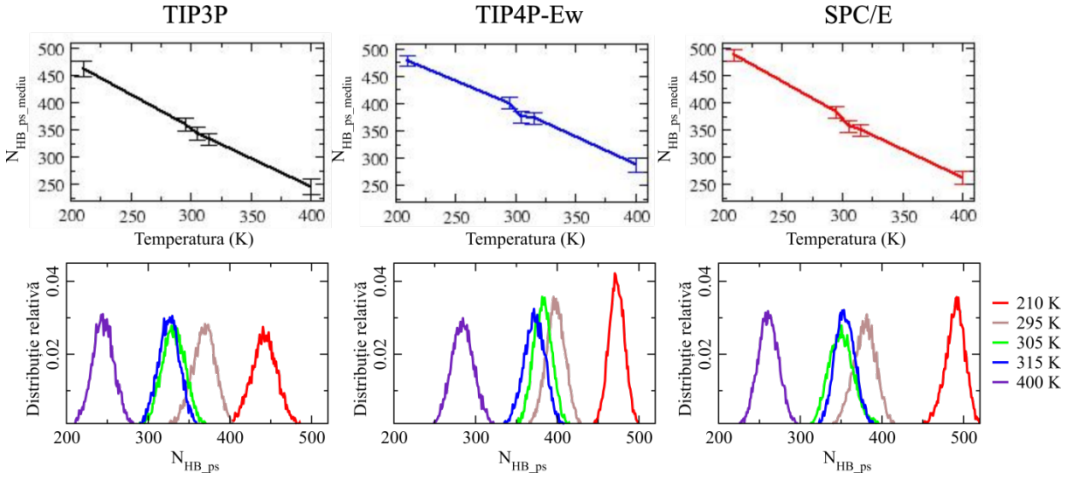


Figura III.15. Variația numărului mediu de legături de hidrogen polimer-apă în funcție de temperatură, pentru zece lanțuri PNIPAM, pe întreaga durată a simulării.

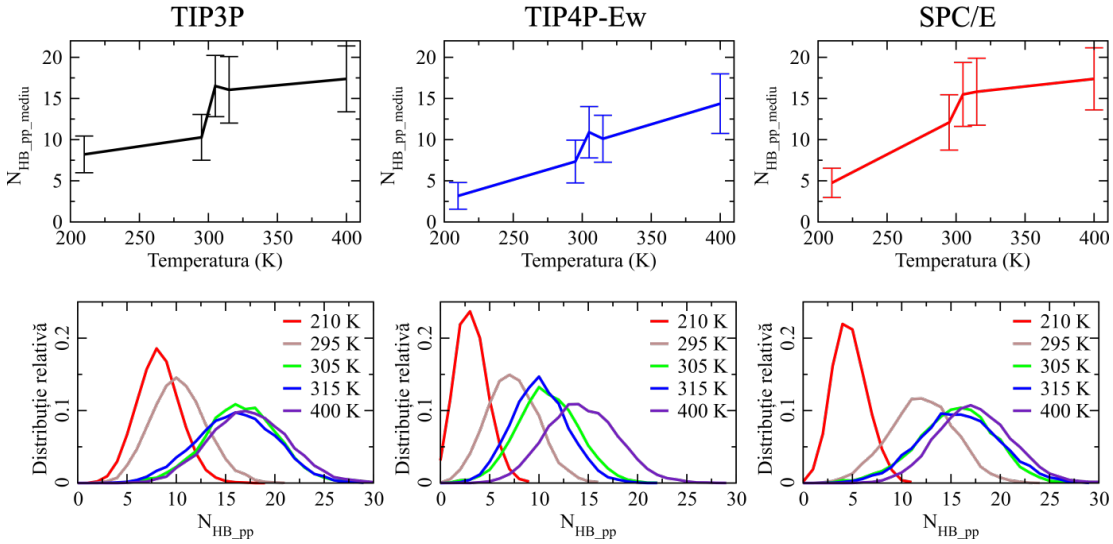


Figura III.19. Variația numărului mediu de legături de hidrogen polimer-polimer în funcție de temperatură (primul rând) și distribuțiile relative ale acestuia (al doilea rând), pentru zece lanțuri PNIPAM, pe întreaga durată a simulării (1000 ns).

Pentru toate modelele de apă, se observă discontinuități în vecinătatea punctului de tranziție, după care modelele TIP3P și SPC/E manifestă un număr aproape constant de legături de hidrogen polimer-polimer. În contrast, modelul de apă TIP4P-Ew favorizează formarea unui

număr suplimentar de legături de hidrogen polimer-polimer printr-o interacțiune cooperativă mai pronunțată între lanțuri, reușind să contracareze fluctuațiile termice accentuate la temperaturi ridicate. Creșterea deviației standard odată cu temperatura reflectă caracterul de scurtă durată al legăturilor de hidrogen polimer-polimer. Distribuțiile relative confirmă aceste observații: la 210 K, distribuțiile sunt centrate în jurul unor valori mici ale numărului de legături de hidrogen; odată cu creșterea temperaturii, distribuțiile se lărgesc și se deplasează progresiv către valori mai mari, indicând formarea unei rețele polimer-polimer puternice, dar relativ instabile. Dincolo de 305 K, distribuțiile se suprapun în mare măsură, sugerând că, odată depășită tranziția, legăturile de hidrogen polimer-polimer devin practic insensibile la creșterea temperaturii.

III.4. Concluzii

Rezultatele teoretice arată că atât simulările cu un singur lanț polimeric, cât și cele cu mai multe lanțuri reproduc același comportament termoresponsiv calitativ al PNIPAM. Totuși, doar sistemul conținând zece lanțuri captează o tranziție stabilă și realistă către conformații compacte, atingând echilibrul semnificativ mai rapid decât sistemul cu un singur lanț și evidențiind rolul esențial al interacțiunilor inter-lanț de tip legături de hidrogen.

Gradul de compactare a polimerului este influențat de legăturile de hidrogen de tip punte, care pot facilita apropierea lanțurilor polimerice și pot promova interacțiunile inter-lanț, conducând potențial la formarea unei rețele polimerice mai dense, cu accesibilitate redusă a apei și deshidratare parțială. Dintre toți descriptorii analizați, legăturile de hidrogen de tip punte se dovedesc a fi cel mai sensibil indicator al tranziției, prezentând cea mai clară discontinuitate aproape de LCST.

Deși toate modelele de apă reproduc mecanismul general de colaps, TIP4P-Ew oferă cea mai precisă descriere a tranziției, localizând corect punctul LCST la 305 K și generând un semnal de tranziție mai abrupt și mai consistent, în special în sistemul cu mai multe lanțuri.

Prin urmare, în cadrul simulărilor de dinamică moleculară utilizând pachetul AMBER și câmpul de forțe GAFF2, identificarea cea mai precisă a LCST pentru polimerii termoresponsivi este obținută pentru sisteme care conțin zece lanțuri PNIPAM de 30-mer, solvatați în modelul de apă TIP4P-Ew. Aceste condiții necesită timpi de simulare de aproximativ 600 ns pentru o echilibrare adecvată, iar cele mai fiabile rezultate se obțin prin analizarea exclusivă a ultimei porțiuni a traiectoriei, corespunzătoare regimului de echilibru.

Astfel, aceste date teoretice obținute servesc ca punct de plecare în noi studii pe structuri PNIPAM în combinație cu substanțe active sau pentru design-ul unor diferite forme funcționalizate ce pot fi folosiți ca transportori de medicamente.

CAPITOLUL IV. SISTEME MOLECULARE CU POTENȚIAL ÎN BIOIMAGISTICĂ: STUDIU TD-DFT PRIVIND INFLUENȚA STRUCTURII ASUPRA LUNGIMII DE UNDĂ DE ABSORBȚIE ÎN HIDROCARBURI AROMATICE POLICICLICE (PAH) ȘI PUNCTE CUANTICE DE CARBON PE BAZĂ DE GRAFEN (GQD).

Studiul a urmărit investigarea proprietăților optice ale hidrocarburilor aromatice policiclice și ale punctelor cuantice de grafen, materiale cu potențiale aplicații în transportul substanțelor active și bioimagistică (Li et al., 2019).

Scopul cercetării a fost stabilirea relației dintre structura moleculară și lungimile de undă ale maximelor de absorbție ale hidrocarburilor aromatice policiclice și ale punctelor cuantice de grafen (GQD). Capitolul completează tema tezei prin investigarea răspunsului optic al unor materiale care ar putea fi explorate ulterior pentru asocierea transportului principiilor active cu funcții de bioimagistică. Studiul a fost motivat de complexitatea materialelor GQD obținute experimental, care îngreunează identificarea structurii moleculare și atribuirea benzilor spectrale (Langer et al., 2021). Prin metode DFT și TD-DFT, au fost investigate structuri cu dimensiuni cuprinse între 18 și 316 atomi, incluzând 23 de hidrocarburi aromatice policiclice și modele hexagonale GQD cu margini de tip scaun și zigzag. Au fost comparate configurații monostrat și multistrat, nefuncționalizate, funcționalizate cu grupări oxigenate sau cu defecte structurale.

Contribuția originală constă în caracterizarea sistematică și comparativă a influenței dimensiunii, tipului marginilor, numărului de straturi, funcționalizării și defectelor asupra proprietăților de absorbție optică. Analiza evidențiază răspunsurile distincte ale structurilor cu margini de tip scaun și zigzag și permite examinarea efectelor combinate ale modificărilor marginale și ale defectelor din planul grafenic.

Rezultatele obținute arată că dimensiunea moleculară, numărul de straturi și tipul marginilor influențează structura electronică și poziția benzilor de absorbție. Creșterea numărului de straturi favorizează, în general, deplasarea absorbției către lungimi de undă mai mari, iar funcționalizarea cu grupări epoxidice și carbonil produce modificări dependente de tipul marginilor și de configurația sistemului. Eliminarea a doi atomi de carbon din planul grafenic generează unele dintre cele mai pronunțate deplasări batocrome observate în structurile investigate (Tirnovan, et al., 2026). Aceste rezultate oferă repere moleculare pentru ajustarea proprietăților de absorbție ale GQD și pentru selectarea unor structuri candidate pentru cercetări ulterioare în bioimagistică. Evaluarea acestei aplicații necesită investigarea

proprietăților de emisie și a comportamentului în medii biologice, iar posibila integrare cu transportul și eliberarea principiilor active rămâne o perspectivă de cercetare.

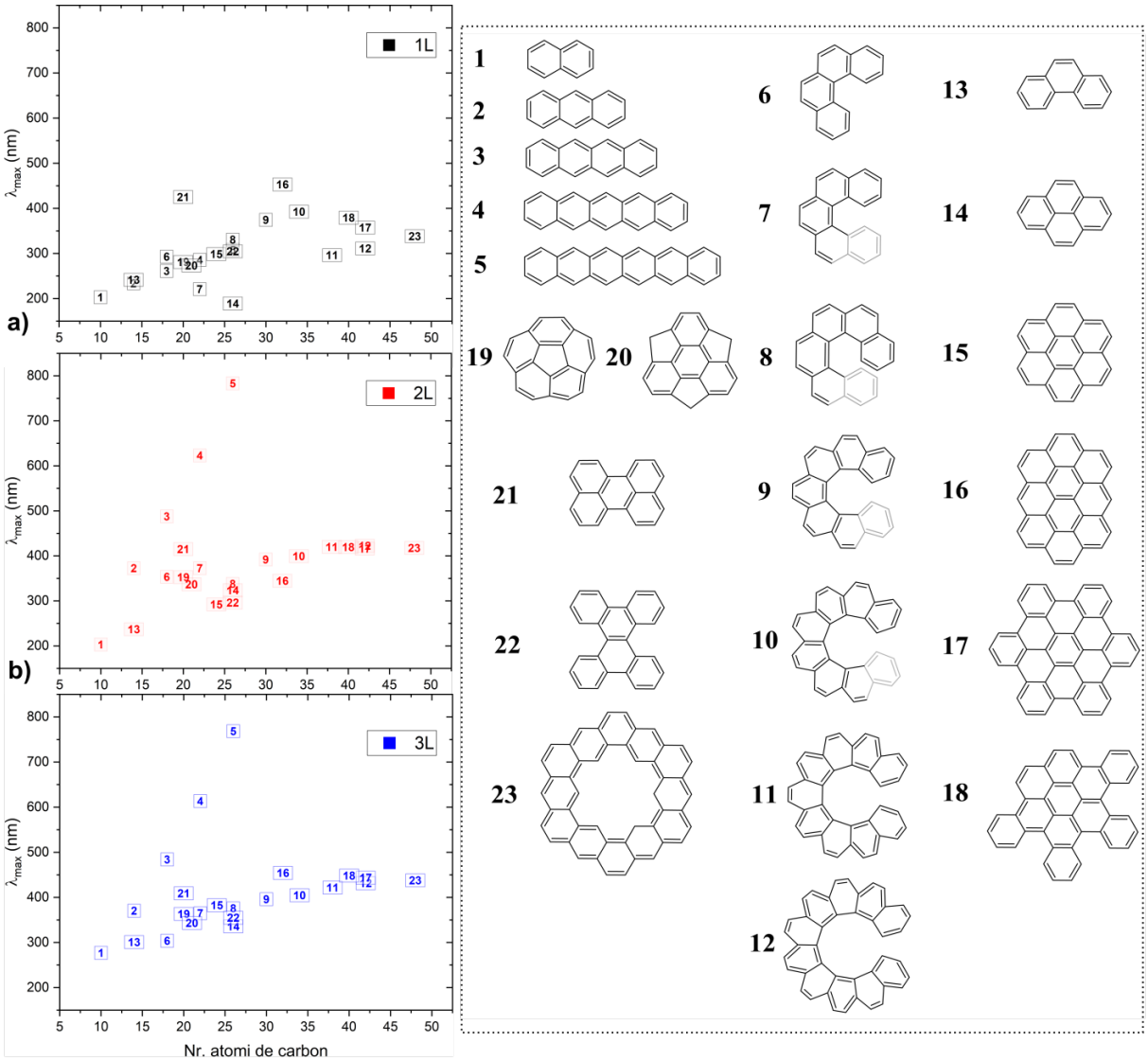


Figura IV.1. a) Structurile moleculare considerate în acest studiu: naftalen-1, antracen-2, tetracen-3, pentacen-4 și hexacen-5, tetrahelicen-6, pentahelicen-7, hexahelicen-8, heptahelicen-9, octahelicen-10, nonahelicen-11, decahelicen-12, fenantren-13, piren-14, coronen-15, ovalenă-16, hexabenzo[bc,ef,hi,kl,no,qr]coronen-17, tetrabenzo[a,d,g,j]coronen-18, coranulen-19, sumanen-20, perilen-21, dibenzo[g,p]crisen -22 și kekulen-23. Reprezentarea grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție (λ_{max}) prezise teoretic pentru sistemele PAH pentru a) un strat (1L), b) două straturi (2L) și c) trei straturi (3L). Lungimea de undă pentru piren-14 nu a fost inclusă în figură, deoarece $\lambda_{max} < 200$ nm.

Tendința generală indică faptul că, pe măsură ce dimensiunea sistemului π-conjugat crește, benzile de absorbție se deplasează către lungimi de undă mai mari, acest efect fiind

atribuit reducerii treptate a diferenței de energie dintre stările excitate și starea fundamentală, conform numeroaselor studii anterioare, ca urmare a creșterii numărului de electroni π implicați în conjugare la distanțe mari în planul grafenic.

Această tendință este deosebit de pronunțată în familia acenelor liniare (naftalen-1, antracen-2, tetracen-3, pentacen-4 și hexacen-5), precum și în celelalte sisteme moleculare caracterizate de structuri aromatice de tip fagure, numerotate ca 13-23. Pe de altă parte, se observă un trend de tip platou care scade pentru compușii 17, 18 și 23. Atomii de carbon sp^3 din structura sumanen-ului (20) determină o lungime de undă maximă de absorbție de aproximativ 273 nm, situată în regiunea ultraviolet.

Structura distorsionată caracteristică familiei helicenelor (6-12) conduce la variații mari ale lungimii de undă maxime, prezentând oscilații în funcție de numărul de unități aromatice. Valorile absorbției se situează în general în intervalul 200-400 nm. Separat, un comportament distinct este observat pentru unitatea ovalen-16, care prezintă o absorbție maximă la aproximativ 453 nm, situându-se în regiunea albastră a spectrului electromagnetic, spre deosebire de restul sistemelor care absorb în principal în domeniul UV.

Se poate observa că există diferențe clare între lungimile de undă de absorbție ale structurilor de tip izomer, ce diferă prin aranjamentul inelelor aromatice, aceste diferențe fiind corelate puternic cu gradul de conjugare π (de exemplu 3 vs. 6, 4 vs. 7 sau 5 vs. 8).

Lungimile de undă maxime de absorbție ale sistemelor cu straturi duble și triple urmează o tendință similară cu sistemele monostrat, cu benzi de absorbție observate în intervalul 200-450 nm. Un comportament aparte apare în seriile acen suprapuse, unde se observă o deplasare batocromă semnificativă odată cu creșterea numărului de inele aromatice, în care λ_{max} se deplasează spre valori mai mari, pentru structurile ca antracen-2, tetracen-3, pentacen-4 și hexacen-5 (**Figura IV.1-b/c** - roșu (2L) și albastru (3L)). În timp ce lungimile de undă ale structurilor 2L și 3L pentru naftalen se situează în intervalul 200-300 nm, cele ale sistemelor corespunzătoare hexacenului se extind până în jur de 800 nm.

Structuri GQD cu margini de tip „scaun” (armchair)

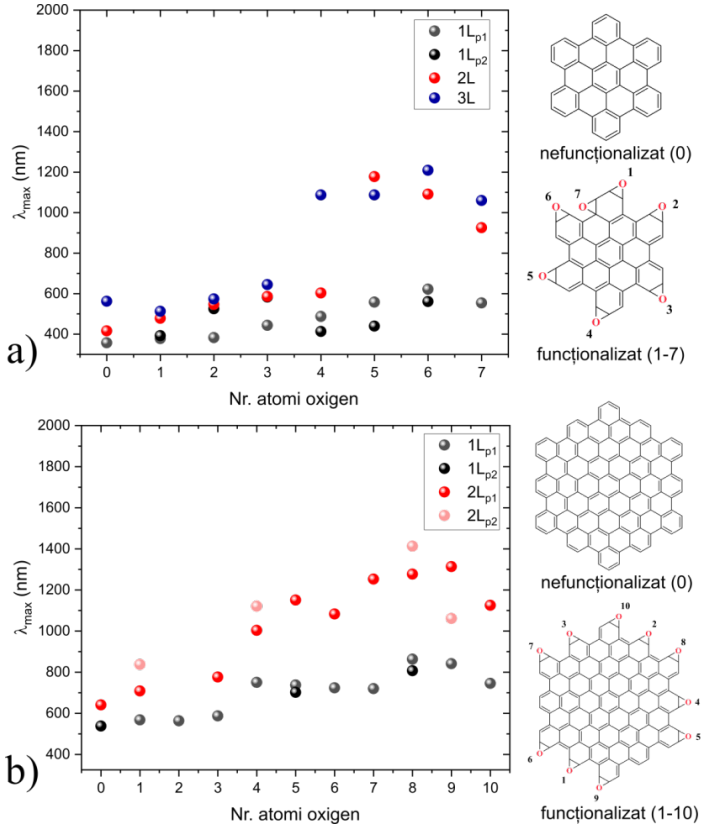


Figura IV.8. Reprezentare grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție (λ_{max}) prezise teoretic pentru GQDh,ac: a) GQDh,ac,$C_{42}H_{18}$ cu 1-7 grupări epoxi și b) GQDh,ac,$C_{114}H_{30}$ cu 1-10 grupări epoxidice, pentru structuri cu un strat (1L), două straturi (2L) și trei straturi (3L).

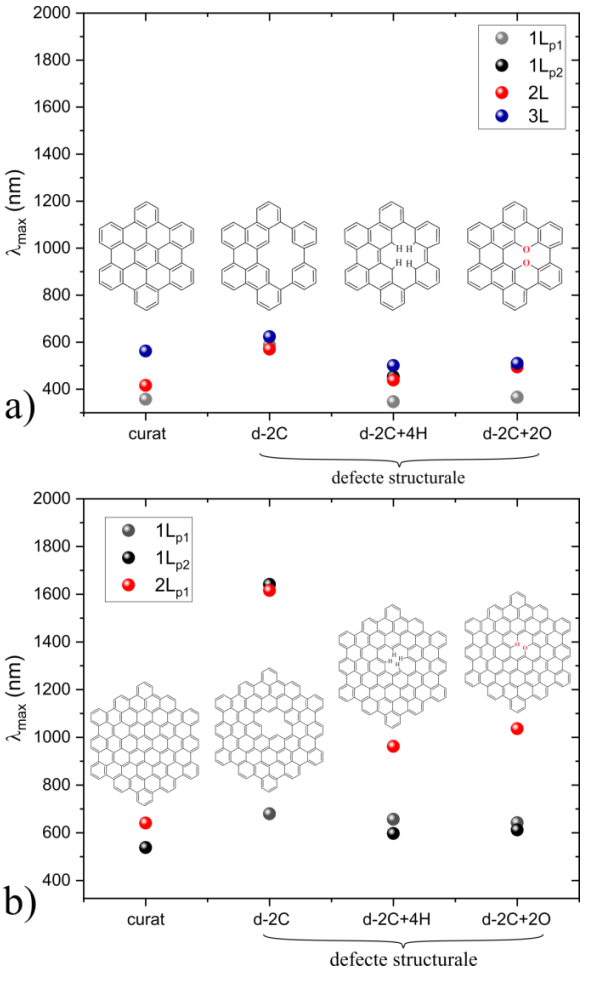


Figura IV.10. Reprezentare grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție (λ_{max}) prezise teoretic pentru GQDh,ac nefuncționalizate și cu defecte structurale pentru: a) seria GQDh,ac,$C_{42}H_{18}$ (1L, 2L și 3L) și b) seria GQDh,ac,$C_{114}H_{30}$ (1L și 2L). Defectele au fost introduse prin îndepărtarea a 2 atomi de carbon vicinali (d-2C), urmată de adăugarea a patru atomi de hidrogen și a doi atomi de oxigen pentru stabilizarea structurilor rezultate (d-2C+4H și d-2C+2O).

Cele mai mari deplasări batocrome a λ_{max} apar în cazul structurilor cu defect de carbon (d-2C) în care prin eliminarea a doi atomi de carbon din interiorul planului grafenic are loc o modificare substanțială a conjugării electronice extinse, rezultând în structuri deviate de la planaritate, cu absorbție λ_{max} în domeniul roșu și NIR. Fenomenul se manifestă cu precădere la structurile de tip dublu strat, unde factorii deja menționați anterior duc la un efect cumulat de perturbare electronică și este predominant pentru structurile mai mari din clasa GQDh,ac,$C_{114}H_{30}$.

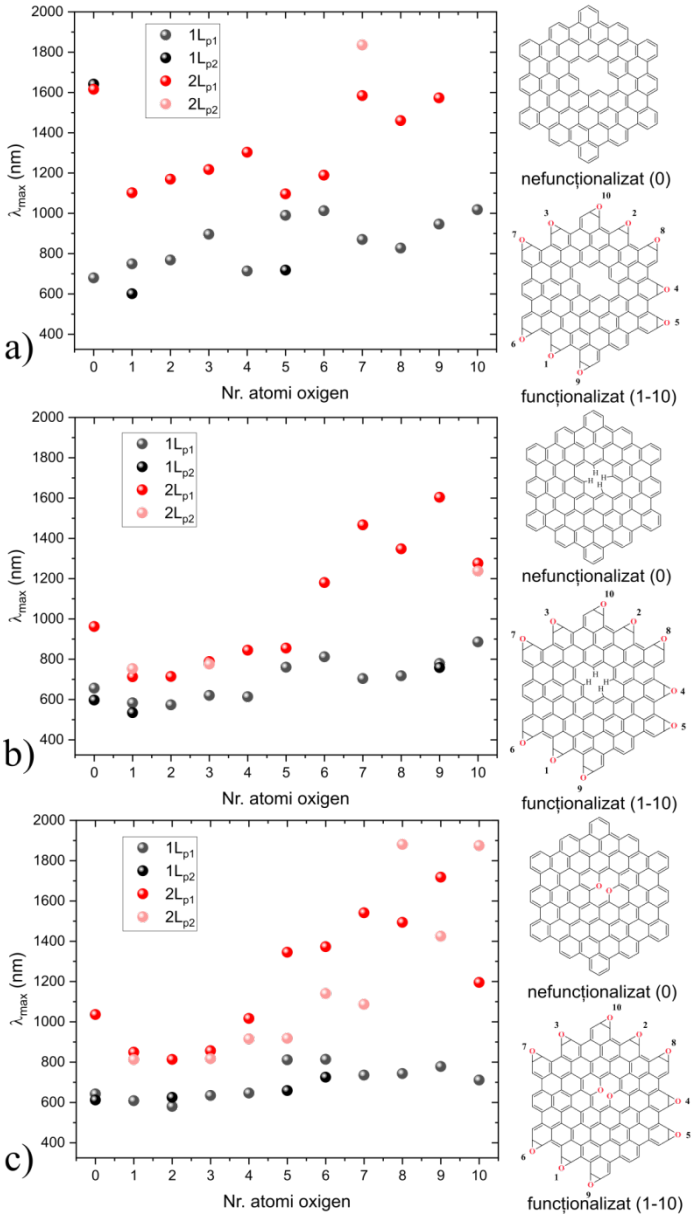


Figura IV.12. Reprezentarea grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție (λ_{max}) prezise teoretic pentru structurile GQDh,ac, $C_{114}H_{30}$ cu un singur strat (1L) și cu două straturi (2L) ce includ defecte structurale și funcționalizate cu grupe epoxi (1-10): a) structuri cu defect obținut prin eliminarea a doi atomi de carbon, b) structuri cu defect obținut prin adăugarea a 4 atomi de hidrogen și c) structuri cu defect obținut prin adăugarea a 2 atomi de oxigen

Pentru structurile multistrat, s-a observat o deplasare a lungimilor de undă către valori mai mari (1800 nm) în sistemele dublu (2L) și triplu strat (3L), comparativ cu sistemele monostrat (1L). Acest comportament indică o deplasare batocromă semnificativă în domeniul NIR asociată cu scăderea energiei necesare tranzițiilor electronice. Suprapunerea orbitalilor π dintre straturile adiacente favorizează cuplajul electronic interstrat, ceea ce duce la extinderea efectivă a sistemului conjugat și la reducerea diferenței de energie dintre orbitalii de frontieră.

Această reducere determină absorbția radiației cu energie mai mică și, implicit, deplasarea către lungimi de undă mai mari. În plus, un al doilea maxim de absorbție a fost observat în spectrele TD-DFT atât pentru GQDh,ac,$C_{42}H_{18}$ ($1L_{p2}$), cât și pentru GQDh,ac,$C_{114}H_{30}$ ($1L_{p2}$ și $2L_{p2}$) (din **Figura IV.10**) atunci când au fost introduse defecte, cel mai probabil ca urmare a interacțiunilor de tip transfer de sarcină (CT) între straturile grafenice.

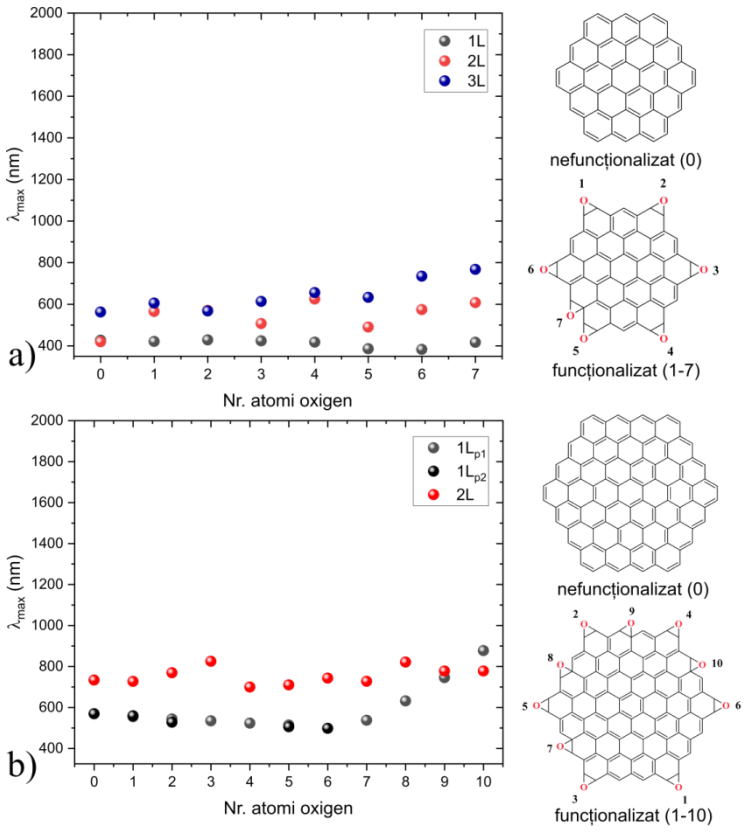


Figura IV.13. Reprezentare grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție (λ_{max}) prezise teoretic, pentru clasa de structuri GQDh,zz: a) $C_{54}H_{18}$ cu 1-7 grupări epoxidice, pentru structuri cu un strat (1L - puncte gri), două straturi (2L - puncte roșii) și trei straturi (3L - puncte albastre; b) $C_{96}H_{24}$ cu 1-10 grupări epoxi, pentru structuri cu un strat (1L - puncte gri și negre) și două straturi (2L - puncte roșii).

În comparație cu structurile de tip scaun prezentate anterior, în cazul structurilor tip zigzag (**Figura IV.13**), variațiile λ_{max} sunt mai restrânse la limita dintre regiunile UV și vizibil și sunt mai puțin fluctuante. Acest comportament este similar cu cel raportat de R. Zhang (Chen et al., 2018) pentru același tip de GQDh,zz,$C_{54}H_{18}$, unde lungimea de undă de absorbție rămâne practic neschimbată în ciuda variațiilor numărului de grupări epoxi grefate pe planul grafenic. Adițional, se observă că diferențele în variația λ_{max} pentru structurile 1L sunt mai

mici pentru structurile zigzag (de aproximativ ≈ 50 nm), comparativ cu aranjamentul de tip „scaun”, iar profilele de lungime de undă sunt mai puțin zgomotoase. Dintr-o anumită perspectivă, acest lucru poate explica discuțiile din literatură referitoare la variațiile acestor tendințe, de exemplu în funcție de gradul de oxidare. Această variație redusă a lungimii de undă de la structura nefuncționalizată la sistemele cu 1-7 grupări epoxi poate fi avantajoasă în procesul de proiectare, atunci când este necesară modificarea solubilității fără a altera semnificativ proprietățile de absorbție.

Procesul de stivuire determină o deplasare spre roșu a lungimii de undă, similară cu cea observată în structurile PAH sau GQDh,ac. Astfel, majoritatea lungimilor de undă corespunzătoare sistemelor GQDh,zz,$C_{54}H_{18}$ cu două straturi sunt situate foarte aproape de limita IR-vizibil, comparativ cu un singur strat, care se află în domeniul vizibil, în timp ce pentru GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$ acestea se situează în regiunea NIR.

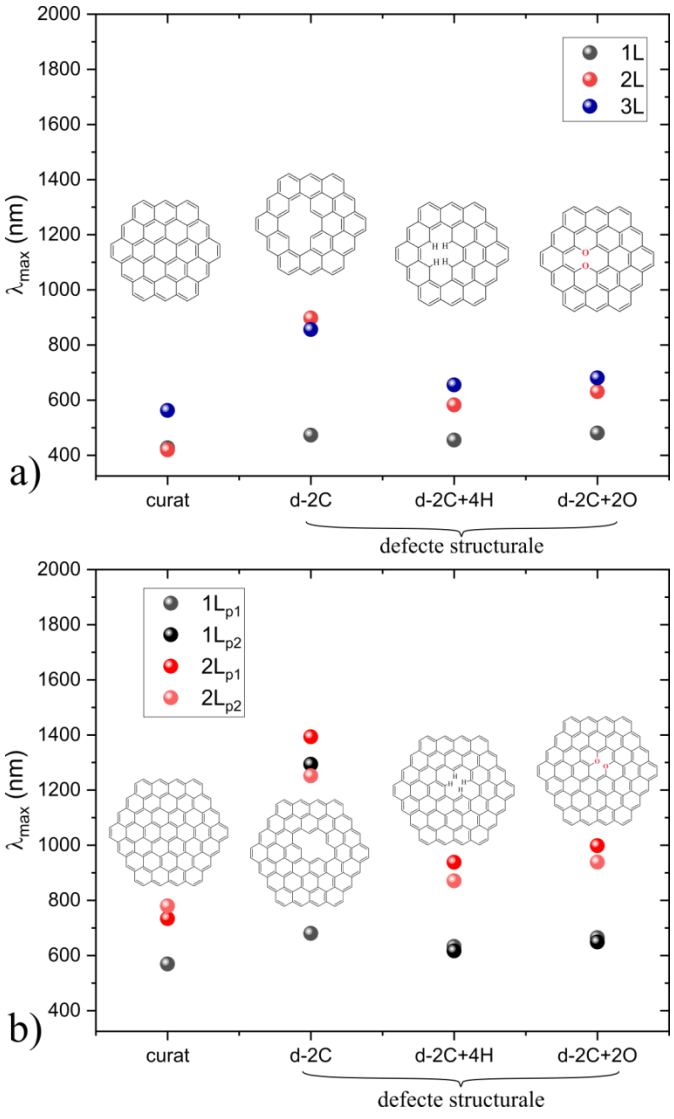


Figura IV.14. Reprezentare grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție prezise teoretic, pentru clasa GQDh,zz: a) GQDh,zz,$C_{54}H_{18}$ (1L-monostrat, 2L-dublu strat și 3L – triplu strat) și b) GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$ (1L, $2L_{p1}$ și $2L_{p2}$ - în care p1, p2 sunt pozițiile relative diferite a planelor grafitice) cu defecte structurale introduse prin îndepărtarea atomilor de carbon (d-2C), urmată de adăugarea a patru atomi de hidrogen (d-2C+4H) și a doi atomi de oxigen (d-2C+2O) pentru stabilizarea structurilor obținute.

Spre deosebire de structurile GQDh,zz,$C_{54}H_{18}$, în cazul structurii GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$ a fost observat un al doilea maxim în structura monostrat (marcat cu cercuri gri, $1L_{p2}$). Acest maxim secundar a fost luat în considerare datorită apariției sale odată cu creșterea dimensiunii sistemului. Pe măsură ce conjugarea electronilor π se extinde, numărul orbitalilor moleculari implicați crește, iar diferența energetică dintre aceștia scade. Ca urmare, pot apărea stări aproape degenerate, ceea ce poate conduce la tranziții suplimentare sau contribuții de tip transfer de sarcină (CT). Acest comportament poate fi atribuit interacțiunilor $\pi \rightarrow \pi^*$ de tip CT între straturi în timpul procesului de excitație.

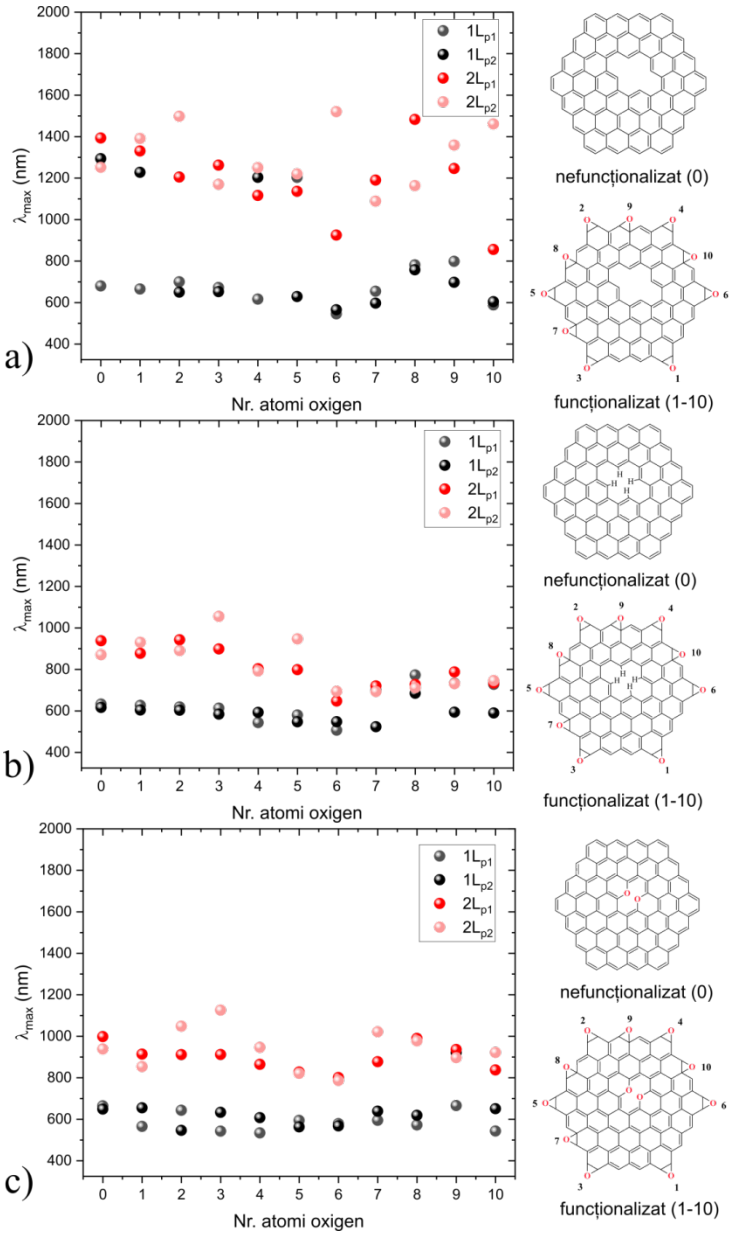


Figura IV.16. Reprezentare grafică a lungimilor de undă maxime de absorbție (λ_{max}) prezise teoretic pentru structurile GQDh,zz, $C_{96}H_{24}$ cu un singur strat (1L) și cu două straturi (2L) ce includ defecte structurale și funcționalizate cu grupe epoxi (1-10): a) structuri cu defect obținut prin eliminarea a doi atomi de carbon, b) structuri cu defect obținut prin adăugarea a 4 atomi de hidrogen și c) structuri cu defect obținut prin adăugarea a 2 atomi de oxigen

Cele mai mari variații ale λ_{max} (până la 1600 nm) se observă în cazul structurilor funcționalizate din **Figura IV.16-a** din care s-au eliminat doi atomi de carbon. Se observă scindarea benzilor de absorbție UV-vis ca urmare a perturbării conjugării electronice, similar cu sistemele cu margini de tip „scaun". Efectul este foarte pronunțat pentru structurile în dublu strat (2L), cu un minim de lungime de undă pentru 6 grupe epoxi grefate pe margini, ce evidențiază încă o dată rolul atingerii simetriei moleculare complete în deplasarea hipsocromă a lungimii de undă, ceea ce echilibrează densitatea electronică pe întreg planul grafenic.

În cazul GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$, calculele TD-DFT au evidențiat o tendință similară de efect de deplasare batocrom în structurile dublu strat (700-950 nm) comparativ cu structura monostrat (500-850 nm). În ambele cazuri, atât în mono- cât și în dublu strat, valorile lungimii de undă cresc odată cu creșterea numărului de atomi de oxigen localizați la marginea unității GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$ (**Figura IV.12-b**), comparativ cu structurile de tip scaun (**Figura IV.16**) Structura curată și sistemul cu atomi de oxigen (până la șapte O) prezintă valori ale λ_{max} în intervalul 500-600 nm, cu o deplasare semnificativă odată cu creșterea numărului de atomi de oxigen de la 1 la 10.

Efectul stabilizator al defectelor de tip d-2C+4H și d-2C+2O este din nou evidențiat în **Figura IV.12** și **IV.16,** unde variațiile în deplasarea lungimii de undă sunt mai limitate, sugerând o compensare parțială a deficitului de densitate electronică. În schimb, funcționalizarea cu grupe epoxi duce la o deplasare hipsocromă a λ_{max} sub 600 nm pentru structurile monostrat și 1000 nm pentru structurile dublu strat de tip zigzag, reprezentând o tendință opusă structurilor cu margini de tip „scaun".

IV.4. Concluzii

Metoda DFT și metoda TD-DFT s-au utilizat cu succes pentru a investiga în mod sistematic structuri GQD de dimensiuni variabile, cu un număr între 18 și 316 atomi, pentru a evalua proprietățile de absorbție maximă în regiunea UV-Vis. Studiul a analizat 23 de hidrocarburi aromatice policiclice (PAHs) și patru unități hexagonale de tip puncte cuantice de grafen de tip GQDh, în particular două tipuri de structuri cu margini de tip scaun (GQDh,ac,$C_{42}H_{18}$/GQDh,ac,$C_{114}H_{30}$) și două cu terminații de tip zigzag (GQDh,zz,$C_{54}H_{18}$/GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$).

Astfel, lungimea de undă de absorbție maximă calculată pentru seria de structuri PAH este în bună concordanță cu datele experimentale. Toate sistemele PAH și structurile GQD mai mici (48 și 54 atomi de carbon) cu unul, două și trei straturi au fost analizat, iar pentru

structurile GQD mai mari (96 și 114 atomi de carbon) au fost investigate structuri cu unul și două straturi. Tendința generală a λ_{max} este de o deplasare batocromă (spre roșu) odată cu creșterea numărului de straturi grafenice.

Rezultatele arată o deplasare batocromă a lungimii de undă maxime de absorbție, corelată cu creșterea dimensiunii moleculare și cu prezența a multiple straturi grafenice.

Dintre toate sistemele analizate, pentru seria de structuri PAH monostrat cu sisteme π complet conjugate, precum tetracenul, pentacenul și hexacenul, prezintă cele mai intense benzi de excitație. În schimb, structurile de tip helicen au intensități mai reduse (tărie a oscilatorului mai mică), din cauza geometriei lor neplanare și a conjugării π perturbate.

In plus, introducerea grupărilor epoxidice la marginile a patru straturi de GQD, două cu margini de tip „scaun" (GQDac) și două de tip zigzag (GQDzz) evidențiază două tendințe distincte: structurile cu margini „scaun" prezintă o creștere continuă a lungimii de undă de absorbție odată cu dimensiunea punctului și cu numărul grupărilor epoxidice de la margine, în timp ce structurile cu margini zigzag arată doar abateri minore față de lungimea de undă a structurii inițiale, pentru primele șapte grupări epoxidice.

În configurațiile multistrat, s-a observat o deplasare batocromă semnificativă către regiunea infraroșu apropiat (NIR), datorită prezenței atomilor de oxigen. Introducerea defectelor structurale în rețeaua grafitică duce fie la o deplasare batocromă (când doi atomi de carbon sunt eliminați din planul bazal), fie la o deplasare hipsocromă, atunci când doi atomi de carbon sunt înlocuiți cu doi atomi de oxigen sau patru atomi de hidrogen.

În plus, a fost investigată influența funcționalizării cu 1 până la 10 grupări epoxi marginale asupra lungimii de undă de absorbție a structurilor GQD. Rezultatele indică faptul că funcționalizarea marginilor induce tendințe diferite în structurile cu margini de tip „scaun" în raport cu cele de tip zigzag. Adăugarea unui număr de până la 7 grupări epoxi pe marginile structurilor zigzag afectează minim proprietățile optice, cu variații restrânse ale lungimilor de undă de absorbție, fiind apropiate de cele ale structurilor GQD nefuncționalizate. Un efect hipsocrom a fost observat pentru ambele sisteme, cu unul și două straturi. În schimb, creșterea până la 10 grupări funcționalizate atașate determină deplasări batocrome semnificative ale lungimii de undă de absorbție, ca urmare a modificării simetriei moleculare. Pe de altă parte, în cele două configurații cu terminații „scaun", se observă un efect batocrom semnificativ asupra valorilor λ_{max}, corelată atât cu dimensiunea sistemului, cât și cu numărul de atomi de oxigen introduși.

În cazul defectelor structurale introduse se induce o deplasare batocromă a lungimii de undă de absorbție, atât pentru sistemele monostrat, cât și pentru cele multistrat, comparativ cu

structurile epoxidate fără defecte. Efectul se manifestă cu precădere în cazul defectului obținut prin eliminarea a doi atomi de carbon din planul bazal al structurilor GQD atât pentru structurile nefuncționalizate cât și pentru cele cu grupe epoxi marginale. Odată cu introducerea altor tipuri de defecte, s-a observat un rol mai degrabă stabilizator, cu valori λ_{max} apropiate de structurile nefuncționalizate. Rolul defectelor în modificarea proprietăților optice este mai dominant în cazul structurilor GQD mai mari (GQDh,zz,$C_{96}H_{24}$ și GQDh,ac,$C_{114}H_{30}$).

Aceste rezultate arată că dimensiunea, tipul marginilor, gradul de oxidare, numărul de straturi și defectele structurale sunt parametri eficienți pentru reglarea proprietăților optice ale punctelor cuantice de grafen și ca materiale cu uz potențial în transportul medicamentelor, prin creșterea hidrofilicității și introducerea de cavități structurale.

Rezultatele obținute arată că proprietățile optice ale punctelor cuantice de grafen pot fi reglate eficient prin modificarea dimensiunii moleculare, a numărului de straturi, a tipului de margine, a gradului de funcționalizare și a defectelor structurale introduse în planul grafenic. Deplasările batocrome observate în anumite sisteme, în special în structurile multistrat funcționalizate și în cele care conțin defecte bazale, indică posibilitatea extinderii domeniului de absorbție către regiuni spectrale relevante pentru aplicații biomedicale. Totodată, funcționalizarea și introducerea defectelor pot contribui la creșterea hidrofilicității și la formarea unor cavități sau zone active, sugerând potențialul acestor materiale atât în bioimagistică, cât și în transportul și livrarea controlată a unor compuși bioactivi.

CONCLUZII GENERALE

Prezenta teză de doctorat a urmărit investigarea, prin metode *in silico* complementare, a unor sisteme moleculare cu potențial în înglobarea, transportul și eliberarea controlată a principiilor active medicamentoase sau în biomagistică Cercetarea a vizat trei clase de sisteme distincte din punct de vedere structural și funcțional: complecși de incluziune pe bază de β-ciclodextrină, polimeri termoresponsivi de tip poli(N-izopropilacrilamidă) și puncte cuantice de grafen cu proprietăți optice ajustabile. În pofida diferențelor dintre aceste platforme, rezultatele obținute evidențiază rolul interacțiunilor necovalente și al dinamicii moleculare în complexare și în răspunsul conformațional al polimerului, precum și influența modificărilor structurale asupra proprietăților optice ale sistemelor grafenice. Modelarea computațională a permis analiza acestor procese la nivel atomistic și electronic, completând informațiile experimentale disponibile și oferind explicații mecanistice și repere pentru proiectarea rațională a materialelor cu potențial biomedical.

Prin integrarea rezultatelor obținute pentru cele trei clase de sisteme, teza evidențiază importanța descrierii la nivel molecular a factorilor care influențează proprietățile acestora. În complecșii cu ciclodextrină, acestea controlează orientarea și reversibilitatea incluziunii. În PNIPAM, acestea determină hidratarea, asocierea interlanț și tranziția conformațională, iar în structurile GQD, funcționalizarea și defectele modifică distribuția electronică și, implicit, proprietățile optice și potențialele situri de adsorbție. Deși metodele folosite diferă, toate studiile confirmă că variații structurale locale pot produce modificări importante ale comportamentului global. Această concluzie susține necesitatea unei proiectări la nivel molecular a transportorilor și materialelor pentru bioimagistică, în locul unei optimizări bazate exclusiv pe încercări experimentale succesive.

În complecșii cu ciclodextrină, acestea controlează orientarea și reversibilitatea incluziunii. În PNIPAM, acestea determină hidratarea, asocierea interlanț și tranziția conformațională, iar în structurile GQD, funcționalizarea și defectele modifică distribuția electronică și, implicit, proprietățile optice și potențialele situri de adsorbție. Deși metodele folosite diferă, toate studiile confirmă că variații structurale locale pot produce modificări importante ale comportamentului global. Această concluzie susține necesitatea unei proiectări la nivel molecular a transportorilor și materialelor pentru bioimagistică, în locul unei optimizări bazate exclusiv pe încercări experimentale succesive.

O contribuție generală a tezei constă în evidențierea utilității metodelor teoretice complementare și a corelării rezultatelor acestora cu datele experimentale disponibile. Simulările au permis investigarea unor mecanisme moleculare care explică comportamentul sistemelor studiate: competiția dintre DMSO și nitratul de propiconazol pentru cavitatea β-CD, incluziunea selectivă a cationului MPPC în raport cu anionul, rolul legăturilor de hidrogen de tip punte în compactarea PNIPAM și influența tipului marginilor, a funcționalizării și a defectelor structurale asupra absorbției optice a structurilor GQD. Datele experimentale au oferit, acolo unde au fost disponibile, repere pentru evaluarea predicțiilor teoretice. Modelarea a completat aceste informații prin descrierea orientărilor moleculare, a evoluției conformaționale, a profilurilor de energie liberă și a tranzițiilor electronice asociate absorbției optice.

Interpretarea rezultatelor trebuie să țină seama de limitele metodelor utilizate. Rezultatele depind de câmpurile de forță, de reprezentarea solventului, de dimensiunea sistemului, de durata simulărilor și de gradul de eșantionare, precum și de funcționalele și seturile de bază utilizate în calculele cuantice. Extrapolarea către condiții biologice necesită validări suplimentare.

Perspectivele de continuare a cercetării includ investigarea ciclodextrinelor substituite, a sistemelor PNIPAM funcționalizate sau încărcate cu principii active și a unor modele GQD corelate cu date spectroscopice și biologice. Extinderea simulărilor la sisteme care includ membrane, proteine și medii apropiate de condițiile fiziologice ar permite evaluarea comportamentului molecular în contexte mai apropiate de cele biologice. Corelarea acestor investigații cu studii experimentale ar contribui la evaluarea potențialului aplicativ al sistemelor analizate.

În ansamblu, rezultatele tezei evidențiază utilitatea metodelor *in silico* în identificarea factorilor care influențează stabilitatea, selectivitatea, răspunsul la stimuli și proprietățile optice ale sistemelor investigate. .Prin explicațiile mecanistice și reperele moleculare oferite, modelarea poate orienta alegerea structurilor și a condițiilor de studiu, precum și planificarea investigațiilor experimentale. Teza contribuie astfel la fundamentarea proiectării raționale a formulărilor farmaceutice, a sistemelor sensibile la stimuli și a materialelor cu potențial în bioimagistică, prin înțelegerea relației dintre structură, mediu și proprietăți.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Chen, S., Ullah, N., Wang, T., & Zhang, R. (2018). Tuning the optical properties of graphene quantum dots by selective oxidation: A theoretical perspective. *Journal of Materials Chemistry C*, *6*(25), 6875–6883. https://doi.org/10.1039/C8TC02083C

Fielding, L. (2000). Determination of Association Constants (*K*a) from Solution NMR Data. *Tetrahedron*, *56*(34), 6151–6170. https://doi.org/10.1016/S0040-4020(00)00492-0

Fifere, A., Marangoci, N., Maier, S., Coroaba, A., Maftei, D., & Pinteala, M. (2012). Theoretical study on β-cyclodextrin inclusion complexes with propiconazole and protonated propiconazole. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, *8*(1), 2191–2201. https://doi.org/10.3762/bjoc.8.247

Isac, D. L., Tîrnovan, P., Nicolescu, A., Fifere, A., Neamtu, A., & Pinteala, M. (2025). Cosolvent effects on the complexation of the antifungal propiconazole nitrate with β-cyclodextrin: A combined molecular dynamics and NMR study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *213*, 107248. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107248

Langer, M., Hrivnák, T., Medved', M., & Otyepka, M. (2021). Contribution of the Molecular Fluorophore IPCA to Excitation-Independent Photoluminescence of Carbon Dots. *The Journal of Physical Chemistry C*, *125*(22), 12140–12148. https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c02243

Li, Z., Fan, J., Tong, C., Zhou, H., Wang, W., Li, B., Liu, B., & Wang, W. (2019). A Smart Drug-Delivery Nanosystem Based on Carboxylated Graphene Quantum Dots for Tumor-Targeted Chemotherapy. *Nanomedicine*, *14*(15), 2011–2025. https://doi.org/10.2217/nnm-2018-0378

Marangoci, N., Mares, M., Silion, M., Fifere, A., Varganici, C., Nicolescu, A., Deleanu, C., Coroaba, A., Pinteala, M., & Simionescu, B. C. (2011). Inclusion complex of a new propiconazole derivative with β-cyclodextrin: NMR, ESI–MS and preliminary pharmacological studies. *Results in Pharma Sciences*, *1*(1), 27–37. https://doi.org/10.1016/j.rinphs.2011.07.001

Pricope, G., Ursu, E. L., Sardaru, M., Cojocaru, C., Clima, L., Marangoci, N., Danac, R., Mangalagiu, I. I., Simionescu, B. C., Pinteala, M., & Rotaru, A. (2018). Novel cyclodextrin-based pH-sensitive supramolecular host–guest assembly for staining acidic cellular organelles. *Polymer Chemistry*, *9*(8), 968–975. https://doi.org/10.1039/C7PY01668A

Tirnovan, P., Isac, D. L., Man, I. C., Puf, R. C., Dascalu, I. A., Coroaba, A., Marangoci, N. L., Cibotariu, N. I., Ciuhodaru, T., Ania, C. O., & Pinteala, T. (2026). Extensive TD-DFT investigation of the absorption wavelength in single and multilayer polycyclic aromatic hydrocarbons/graphene quantum carbon dots. *Surfaces and Interfaces*, *98*, 110526. https://doi.org/10.1016/j.surfin.2026.110526

Tirnovan, P., Isac, D. L., Marangoci, N. L., Nicolescu, A., Coroaba, A., Cretu, B., Laaksonen, A., Neamtu, A., & Pinteala, T. (2026). Supramolecular insights into the complexation of β-Cyclodextrin for alopecia treatment using the mixed cation/anion active principle. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, *14*, 101155. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2026.101155

ANEXA 1 DISEMINAREA REZULTATELOR

Articole publicate în jurnale științifice indexate ISI, ale căror rezultate au făcut conținutul tezei de doctorat:

1. Isac, D. L., **Tirnovan, P.**, Nicolescu, A., Fifere, A., Neamtu, A., & Pinteala, M. (2025). Cosolvent effects on the complexation of the antifungal propiconazole nitrate with β-cyclodextrin: A combined molecular dynamics and NMR study. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 213, 107248. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2025.107248. (**FI = 5,1, Q = Q1**) (AIS = 0,712, Q = Q1)

2. **Tirnovan, P.**, Isac, D. L., Marangoci, N. L., Nicolescu, A., Coroaba, A., Cretu, B., Laaksonen, A., Neamtu, A., & Pinteala, T. (2026). Supramolecular insights into the complexation of β-Cyclodextrin for alopecia treatment using the mixed cation/anion active principle. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 14, 101155. https://doi.org/10.1016/j.carpta.2026.101155. (**FI = 7.6, Q = Q1**) (AIS = 0.861 , Q = Q1).

3. **Tirnovan, P.**, Isac, D. L., Man, I. C., Puf, R., Dascalu, A., Coroaba, A., Marangoci, N. L., Cibotariu, N., Ciuhodaru, T., Ania, C. O., Pinteala, T. (2026). Extensive TD-DFT Investigation of the Absorption Wavelength in Single and Multilayer Polycyclic Aromatic Hydrocarbons/Graphene Quantum Carbon Dots. *Surfaces and Interfaces,* 98, 110526 https://doi.org/10.1016/j.surfin.2026.110526. (**FI = 6,0, Q = Q1**) (AIS = 0,720, Q = Q1).

4. Bacaita, E. S., Tirnovan, P., Laaksonen, A., Mocci, F. (2026). Toward Reliable LCST Prediction of PNIPAM: The Influence of Water Model and Multi-Chain Interactions. Journal of Physical Chemistry B. (FI = 3,2, Q = Q2) (AIS = 0,660, Q = Q2).

Baze de date:

1. Isac, D. L., Man, I. C., **Tirnovan, P.**, (2026). Extensive TD-DFT Investigation of the Absorption Wavelength in Single and Multilayer Polycyclic Aromatic Hydrocarbons/Graphene Quantum Carbon Dots. *Zenodo*, https://doi.org/10.5281/zenodo.22525788.

În perioada studiilor doctorale, studentul Tîrnovan Petru a fost membru din echipa de implementare a următoarelor proiecte:

1. „Intelligent systems for cancer diagnosis and treatment - **IntelDots**” PNRR-III-C9-2022-I8-291;

2. „**BioMat4CAST** - "Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry Multi-Scale In Silico Laboratory for Complex and Smart Biomaterials" Grant Agreement No 101086667

Stagii de cercetare/mobilități realizate în perioada studiilor doctorale:

1. Conferința/Seminar RACB (Recent Advances in Computational Biophysics) din Forschungszentrum Jülich, Germania, desfășurată în perioada 3-7 februarie **2025**.

2. Școala de vară NGMM 2026 (Next-Generation Modelling Summer School), Sardinia, Italia, desfășurată în perioada 27-31 Iulie **2026**.

Participări la manifestări științifice internaționale/naționale:

Comunicări orale

1. *In silico* studies of a novel amphiphilic graft conjugated polymer for biomedical applications; **P. Tirnovan**, F. Mocci, T. Vasiliu, L. Cianga, I. Cianga, M. Pinteala, A. Laaksonen. *MacroYouth 2021*, ICMPP - *Open door to the future scientific communications of young researchers, second edition,* Iași, România; 19 Noiembrie **2021**.

2. Study of Radical Species Formation from Urocanic Acid under UV Irradiation: an Experimental and Theoretical Analysis of its Role in Skin Cancer; **P. Tirnovan**, D. L. Isac, M. Silion, A. Coroaba, T. Rusu, M. Pinteala, A. Laaksonen. *PolyChar'30: PolyChar World Forum on Advanced Materials 30 Edition*, Iași, România, 11-13 Noiembrie **2024**.

3. Unveiling the role or urocanic acid in the formation of skin cancer; **P. Tirnovan**, D. L. Isac, M. Silion, A. Coroaba, A. Laaksonen, M. Pinteala, *MacroYouth 2025, Open door to the future scientific communications of young researchers, 6th edition,* Iași, România, 19 Noiembrie **2025**. (**Premiul III**)

4. BioMat4CAST Multi-Scale In Silico Laboratory for Complex and Smart Biomaterials, **P. Tirnovan**, R. Puf, D. L. Isac, *ICUB-IBAR Joint Workshop; Current Topics in Molecular Biosciences*; București, România, 27 Noiembrie **2025**.

Postere

1. *In silico* Investigation of an Amphiphilic Graft Conjugated Polymer. A Comparative Study of Different Solvation Models; **P. Tirnovan**, F. Mocci, T. Vasiliu, R. Puf, T. Rusu, M.

Pinteală, A. Laaksonen, *PolyChar'30: PolyChar World Forum on Advanced Materials 30 Edition, Iasi, Romania*, 11-13 Noiembrie **2024**.

2. Urocanic Acid and its Role in skin Cancer Under UV-irradiation. A Combined Experimental and Theoretical Study; **P. Tirnovan**, D. L. Isac, M. Silion, A. Coroaba, T. Rusu, M. Pinteala, F. Mocci, A. Laaksonen, *Recent Advances in Computational Biophysics: Methods and Applications*, Forschungszentrum Jülich, Germania, 3-7 Februarie **2025**.

3. Simulating molecular systems with peculiar fluorescence. A case study of lysine; P. Tirnovan, C. M. Carbonaro, L. V. Engelbrecht, A. Laaksonen, T. Rusu, M. Pinteala, F. Mocci, *COST COSY Training School, Exploring Confined Environments with Polymers, Ionic Liquids, and Deep Eutectic Solvents: Predicting Emerging Applications through Modeling and Advanced Experiments*, Iași, România, 8-9 Mai **2025**. (**Premiul III**)

4. Mechanistic insights înto the complexation mechanism of an organic salt drug with cyclodextrin; **P. Tirnovan**, D.-L. Isac, N.-L. Marangoci, A. Neamtu, A. Laaksonen, M. Pinteala, *NGMM 2026 Next-Generation Modelling Summer School*, Sardinia, Italia, 27-31 Iulie **2026**.

5. Inclusion of an Organic Salt Drug Formulation with β-Cyclodextrin for the Treatment of Alopecia. A Theoretical and Experimental Investigation; **P. Tirnovan**, D.-L. Isac, N.-L. Marangoci, A. Nicolescu, A. Coroaba, A. Neamtu, B. Cretu, A. Laaksonen, T. Pinteala, *The 5th European Symposium on Chemical Bonding (CBOND2026)*, Bruxelles, Belgia, 8-11 Septembrie **2026**.