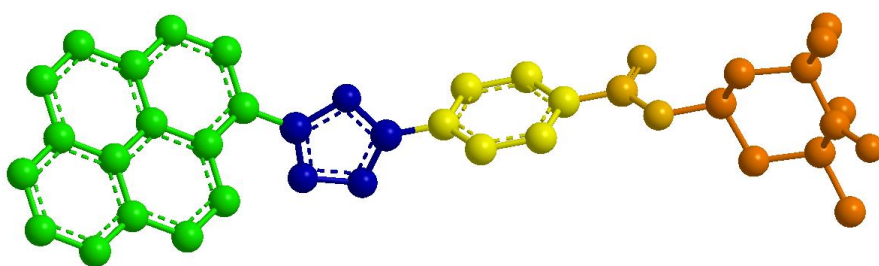


UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE



TEZĂ DE DOCTORAT

Doctorand:

Anca G. Coman (Mirea)

Conducător de doctorat:

Prof. dr. Petre Ioniță

2020

UNIVERSITATEA DIN BUCUREȘTI
FACULTATEA DE CHIMIE
ȘCOALA DOCTORALĂ ÎN CHIMIE

TEZĂ DE DOCTORAT
COMUTATORI ORGANICI FOTOLUMINESCENȚI ȘI
PARAMAGNETICI

Doctorand:

Anca G. Coman (Mirea)

Conducător de doctorat:

Prof. dr. Petre Ioniță

Comisia de doctorat:

Președinte: Prof. dr. Camelia Bala

Conducător de doctorat: Prof. dr. Petre Ioniță

Referenți oficiali:

1. DRI Mihail Dumitru Bărboiu, de la Institut Européen des Membranes, Montpellier
2. Conf. Ileana Cornelia Fărcășanu, de la Universitatea din București
3. Conf. Niculina Daniela Hădade, de la Universitatea Babeș-Bolyai din Cluj-Napoca

2020

CUPRINS

(corespunzător tezei de doctorat)

Listă de abrevieri

Mulțumiri

INTRODUCERE

CAPITOLUL 1. Fluorescența compușilor organici.....	1
1.1. Considerații generale privind fluorescența.....	1
1.1.1. Absorbția și emisia în UV. Tranziții electronice.....	2
1.1.2. Parametrii caracteristici fluoroforilor.....	3
1.1.3. Structura fluoroforilor. Mecanisme de apariție și stingere a fluorescenței.....	5
1.1.3.1. Parametrii structurali care influențează fluorescența.....	5
1.1.3.2. Parametrii experimentali care influențează fluorescența.....	10
1.1.3.3. Transfer intramolecular de protoni în stare excitată.....	11
1.1.3.4. Emisie indusă de agregare.....	14
1.1.3.5. Transferul fotoindus de electroni.....	18
1.1.3.6. Transferul Förster de energie de rezonanță.....	19
1.1.3.7. Stingerea fluorescenței datorită agregării moleculare.....	20
1.1.3.8. Stingerea fluorescenței în prezența unui centru paramagnetic.....	20
1.2. Fluorofori organici. N-acilhidrazone și heterocicluri oxadiazolice.....	22
1.2.1. Considerații generale privind N-acilhidrazonele.....	22
1.2.2. Heterocicluri oxadiazolice. Sinteză și aplicații.....	30
1.2.2.1. Metode de sinteză ale 1,3,4-oxadiazolilor.....	38
1.3. Radicali liberi stabili. Nitroxizi profluorescenți.....	44
1.3.1. Radicali liberi de tip nitroxid. Structură și reactivitate.....	44
1.3.2. Nitroxizi profluorescenți.....	48
1.4. Concluzii.....	51
Capitolul 2. Sinteza de noi bis-N-acilhidrazone cu proprietăți fluorescente.....	62
2.1. Introducere, justificare și obiective.....	62
2.2. Sinteza bis-N'-acilhidrazonelor.....	66
2.3. Analiză structurală.....	68
2.3.1. Analiza structurală prin RMN și MS.....	68
2.3.2. Structura în stare solidă.....	78
2.4. Proprietăți de absorbție și emisie.....	81

2.4.1. Spectrele de emisie ale hidroxi-bis- <i>N</i> -acilhidrazonelor în stare solidă.....	81
2.4.2. Spectrele de absorbție în soluție.....	82
2.4.2. Spectre de fluorescență.....	85
2.4.3. Investigarea proprietăților de comutare moleculare ale hidroxi-bis- <i>N</i> -acilhidrazonelor sub influența apei.....	90
2.4.3.1. Comutatoare moleculare.....	101
2.4.4. Răspunsul la pH al compusului 2.1e.....	111
2.5. Aplicații în marcarea celulelor ale compusului 2.1e.....	119
2.6. Concluzii.....	121
Capitolul 3. Sinteza de noi nitroxizi cu proprietăți duale: luminescență și paramagnetism.....	124
3.1. Introducere, justificare și obiective.....	124
3.2. Retrosinteza nitroxizilor profluorescenți.....	127
3.3. Sinteza nitroxizilor profluorescenți.....	127
3.3.2. Sinteza 2,5-diaril-1,3,4-oxadiazolilor.....	130
3.3.2. Sinteza nitroxizilor profluorescenți.....	130
3.4. Analiza structurală a compușilor sintetizați.....	131
3.4.1. Caracterizarea structurală a <i>N</i> -acilhidrazonelor.....	132
3.4.2. Caracterizarea structurală a 1,3,4-oxadiazolilor.....	136
3.4.3. Caracterizarea nitroxizilor profluorescenți.....	141
3.4.3.1. RES.....	142
3.4.3.2. RMN.....	142
3.4.3.3. Spectrele de masă de înaltă rezoluție ale nitroxizilor profluorescenți.....	148
3.4.3.4. Voltametrie ciclică.....	148
3.4.3.5. Structura în stare solidă a nitroxidului 3.1d.....	150
3.5. Investigarea proprietăților fotofizice ale 1,3,4-oxadiazolilor și ale nitroxizilor profluorescenți	152
3.5.1. Proprietăți de absorbție și emisie ale 2,5-diaril -1,3,4-oxadiazolilor.....	153
3.5.2. Proprietăți de absorbție și emisie ale nitroxizilor profluorescenți.....	155
3.5.2.1. Investigarea proprietăților duale ale nitroxizilor profluorescenți.....	158
3.5.2.2. Efectul solventului asupra proprietăților de emisie ale nitroxizilor profluorescenți.....	161
3.5.2.3. Aplicații.....	164
3.7. Sinteza unui nou derivat profluorescent al 4-cloro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol.....	165
3.7.1. Sinteza derivatului profluorescent și paramagnetic al 4-cloro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazolului.....	166
3.7.2. Analiza structurală.....	166

3.7.2. Studii de complexare.....	169
3.7.3. Proprietățile de absorbție și emisie.....	177
3.8. Concluzii.....	180
Capitolul 4. Partea experimentală.....	185
4.1. Generalități.....	185
4.2. Sinteza aldehydelor.....	186
4.3. Procedura de sinteză pentru acidul 4-(hidrazincarbonil)benzoic 2.6c.....	187
4.4. Sinteza N-acilhidrazonelor.....	188
4.5. Sinteza 2,5-diaril-1,3,4-oxadiazolilor.....	194
4.6. Sinteza 4-nitro-7-(1,4,10,13-tetraoxa-7,16-diazaciclooctadecan-7il) benzo [c] [1,2,5] oxadiazolului 3.10.....	196
4.7. Sinteza nitroxizilor profluorescenți.....	198
4.8. Spectroscopie de absorbție UV-Vis.....	199
4.9. Spectroscopie de fluorescență în soluție.....	199
4.10. Spectrele de fluorescență ale compusului 3.1a în prezența ascorbatului de sodiu (Răspunsul compusului 3.1a la un agent reducător).....	200
4.11. Spectrele de fluorescență ale compusului 3.1d în diferiți solvenți și în prezența fenilhidrazinei.....	200
4.12. Spectroscopie de rezonanță electronica de spin.....	201
4.13. Voltametrie ciclică.....	201
Concluzii generale	
Anexe	

Introducere

Fluoroforii sunt molecule organice cu proprietăți optice deosebite care le conferă aplicații în domenii precum chimia materialelor, biochimia, biologia sau chimia mediului. Modificarea caracteristicilor de emisie, prin varierea structurală, dar și a condițiilor experimentale poate fi rezultatul a diferite procese intermoleculare și intramoleculare precum: transfer intramolecular de protoni (ESIPT), agregare moleculară (AIE, ACQ), izomerizare, etc. la ora actuală fiind binecunoscute toate aceste mecanisme de apariție a luminescenței la iradierea cu lumină din ultraviolet și vizibil.

Teza de doctorat *“Comutatori organici fotoluminescenți și paramagnetici”* prezintă rezultatele obținute cu privire la sinteza și studiul proprietăților optice, în special referitoare la emisia de fluorescență, ale unor derivați divers substituiți din clasele *N*-acilhidrazonelor, heterociclurilor oxadiazolice și nitroxizilor profluorescenți. În acest scop au fost investigate proprietățile de absorbție și emisie de fluorescență, în diferite condiții experimentale și au fost dezvoltate diverse aplicații, pe baza capacității de comutare a compușilor sintetizați între culorile emise și respectiv, abilitatea de comutare între fluorescență și paramagnetism.

Primul capitol intitulat, *“Fluorescența compușilor organici”*, descrie rezultatele publicate în literatură referitoare la fluorofori, mecanismele de apariție și stingere a fluorescenței, sinteza și aplicațiile *N*-acilhidrazonelor, heterociclurilor oxadiazolice și ale nitroxizilor profluorescenți.

Capitolul al doilea, *“Sinteza de noi bis-N-acilhidrazone cu proprietăți fluorescente”*, descrie sinteza de noi hidroxi-bis-*N*-acilhidrazone ale căror modificări structurale pot conduce la diferite proprietăți și aplicații. Hidroxi-*N*-acilhidrazonele sintetizate pot fi utilizate ca molecule capabile să emită fluorescență prin transfer intramolecular de protoni în stare excitată (ESIPT). De asemenea, modificările conformaționale rezultate în urma fenomenului de agregare moleculară, sub influența apei, conduc la emisia de fluorescență (AIE).

Capitolul al treilea, *“Sinteza de noi nitroxizi cu proprietăți duale: luminescență și paramagnetism”*, prezintă sinteza de noi nitroxizi profluorescenți derivați de la oxadiazoli. Experimentele de fluorescență ale nitroxizilor profluorescenți indică stingerea fluorescenței în prezența radicalului liber și redobândirea ei prin reacția cu un agent reducător (fenilhidrazină, ascorbat de sodiu). De asemenea, capitolul prezintă sinteza unor compuși de tip fluorofor-aza-eter-coroană și, respectiv, fluorofor-aza-eter-coroană-nitroxid, pentru care au fost investigate structura, proprietățile fotofizice și comportamentul acestora în prezența ionilor metalici alcalini.

Rezultatele cercetării își propun a fi o contribuție la dezvoltarea de noi sisteme fluorescente care pot fi modificate controlat și reversibil, și care își pot găsi aplicații ca senzori pentru monitorizarea a diferite sisteme chimice sau biochimice.

CAPITOLUL 1. Fluorescența compușilor organici

1.1. Considerații generale privind fluorescența

Luminescența reprezintă emisia spontană a fotonilor din domeniul ultraviolet, vizibil sau infraroșu de specii chimice aflate în stare excitată.¹ Procesul prin care, în urma absorbției de lumină (fotoni), o moleculă trece din stare fundamentală (S_0) în stare excitată de singlet (S_1) sau de triplet (T_1) și revine la starea fundamentală prin emisie de fotoni se numește *fotoluminescență* și poate fi definită ca fluorescență ($S_1 \rightarrow S_0$), fosforescență ($T_1 \rightarrow S_0$) sau fluorescență întârziată (*delayed fluorescence*, $T_1 \rightarrow S_1 \rightarrow S_0$). *Fluorescența* reprezintă fenomenul de emisie spontană a radiației electromagnetice (proces radiativ) în urma unei tranziții electronice între două stări cu aceeași multiplicitate de spin (singlet).²

Moleculele care trec în stare excitată prin absorbția unui foton pot reveni la starea fundamentală prin emisie de fluorescență sau prin alte mecanisme neradiative (fără emisie de radiație) precum: conversie internă (*Internal Conversion, IC*), încrucișare intersistem (*Intersystem Crossing, ISC* - poate fi urmată de procesul de fosforescență), relaxare vibrațională, transfer de sarcină intramolecular sau schimbări conformaționale.¹

Speciile în stare excitată pot interacționa cu alte molecule, generând procese precum: transfer de protoni, transfer de electroni, transfer de energie, formare de excimeri (complecși instabili care se formează în stare excitată prin interacția a două molecule identice³) sau exciplecși (complecși instabili care se formează în stare excitată prin interacția dintre două molecule diferite³). Astfel de procese pot intra în competiție cu fenomenul de fluorescență și pot conduce la formarea de noi specii cu fluorescență superioară speciei inițiale.¹ Emisia de fluorescență poate fi influențată de factori fizici sau chimici precum: polaritatea mediului, pH-ul, formarea de legături de hidrogen, presiune, vâscozitate, temperatură, potențial electric, ioni, etc.¹

1.1.1. Absorbția și emisia în UV. Tranziții electronice

Prin absorbția unui foton la iradierea unei molecule, are loc tranziția unui electron de pe un orbital ocupat pe un orbital liber de energie mai mare, molecula trecând din stare fundamentală (S_0) în stare excitată (S_1). În funcție de structura moleculei, pot fi întâlnite majoritar două tipuri de tranziții electronice: $\pi \rightarrow \pi^*$ și $n \rightarrow \pi^*$ (pentru moleculele care conțin electroni neparticipanți) (Figura 1).

Tranzițiile electronice sunt permise între nivele energetice cu aceeași multiplicitate de spin, de exemplu tranzițiile singlet-singlet sau triplet-triplet, însă pot exista și tranziții între nivele cu multiplicități diferite, precum cele de tip singlet-triplet sau triplet-singlet. Aceste tranziții au loc cu inversia spinului electronic și sunt numite tranziții interzise.¹ Emisia de fluorescență poate fi observată

în urma unei tranziții de tip singlet-singlet, iar fosforescența în urma unei tranziții cu inversie de spin de tipul triplet-singlet.

Digrama Jablonski¹ (Figura 2) reprezintă cel mai simplu mod de a înțelege tranzițiile care pot avea loc în cadrul proceselor de excitare și de emisie de fluorescență sau fosforescență.

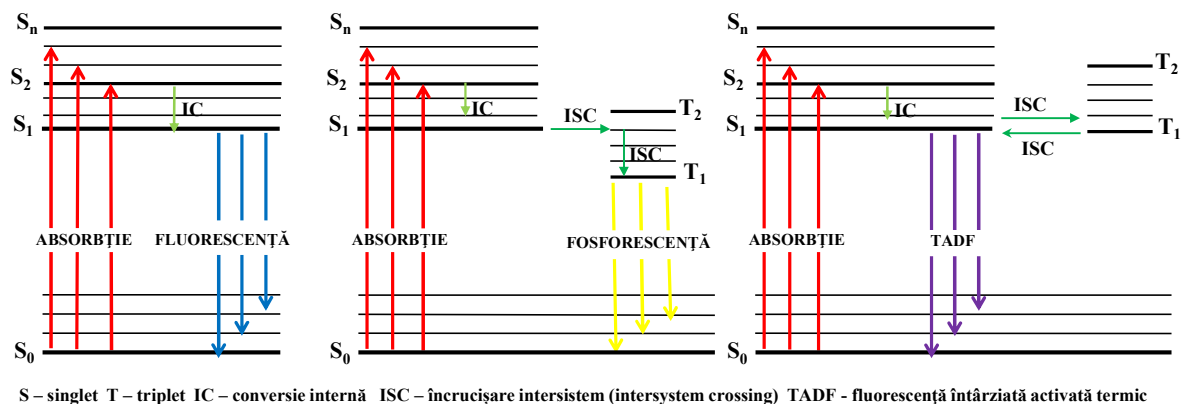


Figura 1. Diagrama Jablonski - schematizarea tranzițiilor electronice care au loc în cadrul proceselor de absorbție, fluorescență, fosforescență și fluorescență întârziată activată termic

1.1.2. Parametrii caracteristici fluoroforilor

Fluoroforii prezintă proprietăți fluorescente diferite și caracteristici determinate de: lungimea de undă de emisie, intensitatea benzii de emisie, timpul de viață al fluoroforului în stare excitată și randamentul cuantic de fluorescență. Determinarea acestor parametri se poate realiza prin înregistrarea spectrelor de excitare și de emisie ale fluoroforului de interes.

1.1.3. Structura fluoroforilor. Mecanisme de apariție și stingere a fluorescenței

Parametrii caracteristici unui fluorofor pot varia în funcție de structură (natura substituenților) și de condițiile experimentale (solvent, pH, vâscozitate etc.) utilizate pentru determinarea acestora. Variația parametrilor structurali și experimentali poate conduce la îmbunătățirea sau scăderea dramatică a emisiei de fluorescență și implicit a randamentului cuantic de fluorescență al unui fluorofor.

1.1.3.1. Parametrii structurali care influențează fluorescența

Fluoroforii sunt în general compuși aromatici care conțin în structura lor *sisteme conjugate*. Prezența conjugării extinse conduce la o deplasare a maximelor de absorbție și de emisie către lungimi de undă mai mari.⁴

Substituția fluoroforilor cu grupări precum $-OH$, $-NH_2$, $-COOH$ poate conduce la modificarea culorii (lungimii de undă) de emisie și implicit a caracteristicilor fluoroforului. Atât natura substituentului, cât și poziția acestuia pot determina modificări majore în spectrele de absorbție și de fluorescență.⁴ De asemenea, substituenții cu număr atomic mare precum bromul sau iodul, pot determina stingerea fluorescenței deoarece crește probabilitatea ca tranziția neradiativă ISC să aibă loc. Pot exista însă și cazuri în care astfel de substituenți nu influențează fluorescența, în special atunci când randamentul cuantic de fluorescență este mare, întrucât fluorescența domină celelalte procese de dezexcitare.⁴

1.1.3.2. Parametrii experimentali care influențează fluorescența

Caracteristicile emisiei de fluorescență sunt puternic influențate de condițiile experimentale (solvent, vâscozitate, temperatură). Interacția fluoroforului cu solventul depinde, pe de o parte, de polaritatea solventului și, pe de altă parte, de valoarea momentului de dipol al fluoroforului.

În plus, în cazul solventilor protici precum apa, solventul poate dona sau accepta un proton, favorizând fenomenul de protonare sau deprotonare a fluoroforului în stare excitată.¹ Spre exemplu, în apă, caracterul acid al unei grupări fenolice sau caracterul bazic al unui atom de azot dintr-un heterociclu poate crește în urma iradierii datorită proceselor de protonare/deprotonare ce pot avea loc.¹ Studii anterioare¹ au demonstrat că forma acidă a unui fluorofor prezintă un maxim de emisie la lungimi de undă mai mici comparativ cu forma sa bazică, ceea ce conduce la ideea că absorbția și emisia de fluorescență a unor fluorofori care conțin funcțiuni susceptibile la mediul acid sau bazic sunt dependente de *pH*.

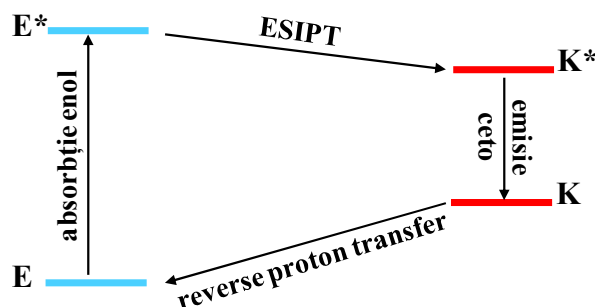
Modificarea poziției maximului de emisie în funcție de natura solventului utilizat poartă denumirea de *solvatofluorocromism*, iar deplasarea maximului de emisie poate avea loc către lungimi de undă mai mari (roșu) sau mai mici (albastru).¹

Emisia de fluorescență poate fi influențată și de factori sterici precum rigiditatea moleculei și *vâscozitatea* solventului utilizat. Utilizarea unui solvent fluid favorizează fenomenul de relaxare care însoțește procesul de reorientare a dipolilor de solvent.⁴ Utilizarea unui solvent cu vâscozitate mare nu va permite reorganizarea moleculelor de solvent și, implicit, nu va conduce la modificarea poziției maximului de emisie.¹

1.1.3.3. Transfer intramolecular de protoni în stare excitată (*Excited state intramolecular proton transfer* - ESIPT)

Procesul de *transfer intramolecular de protoni în stare excitată (ESIPT)* necesită posibilitatea de formare a unei legături de hidrogen intramoleculare între o grupare capabilă să doneze protoni (–

OH, -NH) și o grupare acceptoare de protoni ($-C=O$, $-N=$) aflate în vecinătate, geometric poziționate favorabil, care determină, prin iradiere, transferul protonului de pe un atom pe altul, prin tautomerizare.⁵ Cele mai frecvente exemple de molecule care prezintă fenomenul de transfer intramolecular de protoni conțin în structura lor gruparea $-OH$ și pot prezenta tautomerie ceto-enolică, astfel că acestea se găsesc în starea fundamentală sub formă enolică, stabilizată prin formarea legăturii de hidrogen între cele două grupări (Schema 1).⁵



Schema 1. Reprezentarea schematică a procesului de transfer intramolecular de protoni (ESIPT) pentru specii ceto-enolice

1.1.3.4. Emisie indusă de agregare (*Aggregation induced emission* - AIE)

Procesul de emisie indusă de agregarea moleculară (AIE) reprezintă fenomenul în care un compus nefluorescent sau un fluorofor cu emisie slabă poate prezenta emisie intensă ca urmare a formării agregatelor moleculare. Formarea acestor agregate poate fi indusă prin dizolvarea compusului într-un solvent organic, urmată de adăugarea de apă drept cosolvent.⁹

Mecanismul emisiei indusă de formarea agregatelor moleculare poate implica: restricții intramoleculare de rotație (RIR) sau restricții intramoleculare de vibrație (RIV).¹⁰

1.1.3.5. Stingerea fluorescenței datorită agregării moleculare (*Aggregation-caused quenching* - ACQ)

Stingerea fluorescenței datorită agregării moleculare (ACQ) poate apărea atât în soluție, cât și în stare solidă. De obicei, fluoroforii clasici conțin în structura lor mai multe cicluri aromatice conjugate, iar în soluții concentrate sau în stare solidă apare fenomenul de stingere a fluorescenței datorat interacțiilor π - π și planarității moleculei.¹¹

1.1.3.8. Stingerea fluorescenței în prezența unui centru paramagnetic

Stingerea fluorescenței în prezența unui centru paramagnetic se realizează prin legarea covalentă a unui fluorofor la un radical liber stabil și este datorată schimbului de electroni între cele două specii care alcătuiesc molecula hibrid.¹² Procesul generează schimbarea multiplicității de spin a

stărilor energetice (Figura 2). De exemplu, în cazul unei molecule hibrid care conține în structura sa un fluorofor și un nitroxid, starea fundamentală de singlet (S_0) și starea excitată de singlet cu energia cea mai joasă (S_1) ale fluoroforului trec în starea de dublet datorită prezenței electronului liber din structura radicalului liber.¹² Electronul neîmperecheat din SOMO (*Singly Occupied Molecular Orbital*) din structura radicalului liber interacționează cu sistemul conjugat de electroni din structura fluoroforului, tranzițiile interzise de la starea excitată de singlet (S_1) la starea de triplet (T_2) și tranziția la starea fundamentală de singlet (S_0) sunt permise, procesul având loc cu o scădere a randamentului cuantic de fluorescență (Figura 2).

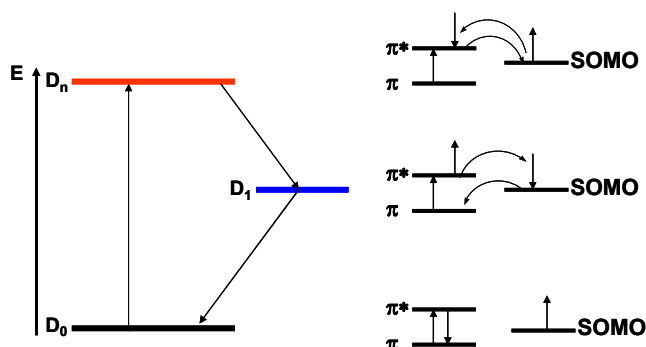


Figura 2. Tranzițiile care au loc la interacția sistemului conjugat de electroni al fluoroforului cu electronul neîmperecheat din structura radicalului liber

1.2. Fluorofori organici. *N*-acilhidrazone și heterocicluri oxadiazolice

În prezenta teză de doctorat au fost studiate molecule aparținând claselor de *N*-acilhidrazone și heterocicluri oxadiazolice. Astfel de molecule pot genera materiale cunoscute sub denumirea de materialele fluorescente inteligente (*smart fluorescent materials*), definite ca materiale care își pot schimba proprietățile fotofizice (de exemplu: fluorescența) în prezența mai multor stimuli precum temperatură, presiune, vapori, solvenți, aplicabile ca dispozitive optice, senzori, substanțe utilizate în imagistică, etc.¹³

N-acilhidrazonele pot prezenta modificări configuraționale și conformaționale sub acțiunea diferiților stimuli fizici sau chimici, modificări care pot conduce la schimbări majore ale proprietăților luminescente. De asemenea, sunt cunoscute pentru obținerea de noi 1,3,4-oxadiazoli.

Heterociclurile oxadiazolice prezintă ca principală proprietate luminescența, această clasă de heterocicluri fiind intens studiată în scopul găsirii de noi molecule cu proprietăți fluorescente sau fosforescente îmbunătățite, cunoscute în principal pentru fabricarea dispozitivelor electronice precum ledurile organice.¹⁴

Designul și sinteza de noi molecule organice cu proprietăți fluorescente precum *N*-acilhidrazonele sau 1,3,4-oxadiazolii reprezintă o provocare pentru chimiștii organicieni, având în

vedere multitudinea metodelor de sinteză prin care pot fi obținute dar și numeroasele aplicații pe care le pot avea.

1.3. Radicali liberi stabili. Nitroxizi profluorescenți

Radicalii liberi sunt specii stabile din punct de vedere cinetic și sunt caracterizați de prezența unui electron neîmperecheat.¹⁵ Radicalii liberi stabili sunt specii care nu reacționează cu oxigenul și care pot fi izolați, manipulați și depozitați sub formă de compuși puri în condiții normale.¹⁵

Legarea covalentă a unui radical liber stabil și a unui fluorofor duce la pierderea fluorescenței, care poate fi redobândită prin anihilarea speciei radicalice (*vide infra*).¹⁶ Compușii de acest tip pot, așadar, prezenta două proprietăți - fluorescență și paramagnetism - între care se poate comuta în funcție de aplicațiile vizate.

1.4. Concluzii

Aspectele privind - *i*) considerațiile generale ale apariției fenomenelor de fotoluminescență și diversitatea structurală a fluoroforilor și factorii care influențează emisia de lumină, *ii*) descrierea proprietăților structurale, sinteza, reactivitatea și aplicațiile *N*-acilhidrazonelor și derivaților heterociclici oxadiazolici, precum și *iii*) prezentarea structurii radicalilor liberi de tip nitroxid și a derivaților de tip nitroxizi profluorescenți, obținerea și principalele aplicații în care își găsesc utilitatea - reprezintă premisele de la care am plecat în elaborarea rezultatelor cercetării descrise în teza de doctorat și care sunt prezentate în Capitolele 2-4.

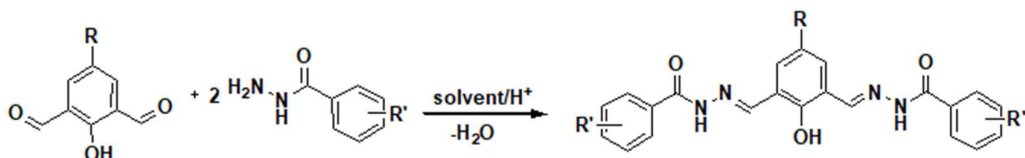
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. B. Valeur, Molecular fluorescence: Principles and applications, Wiley-Vch Verlag GmbH, **2012**.
2. S. Braslavsky, Glossary of terms used in photochemistry, *Pure Appl. Chem.*, **2007**, 79, 293.
3. M. A. Omary, H. H. Patterson, Luminescence, Theory, 3rd ed., *Elsevier Ltd.*, **2017**, 636.
4. J. R. Albani, Principles and applications of fluorescence spectroscopy, Blackwell Publishing, **2007**.
5. J. E. Kwon, S. Y. Park, *Adv. Mater.*, **2011**, 23, 3615
6. a) J. Goodman, L. E. Brus, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 7472; b) N. P. Ernsting, A. Mordzinski, B. Dick, *J. Phys. Chem.*, **1987**, 91, 4261.
7. P.-T. Chou, W.-S. Yu, Y.-M. Cheng, S.-C. Pu, Y.-C. Yu, Y.-C. Lin, C.-H. Huang, C.-T. Chen, *J. Phys. Chem. A*, **2004**, 108, 6487.
8. J. B. Birks, Photophysics of Aromatic Molecules, *Wiley*, **1970**.
9. J. Mei, Y. Hong, J. W. Y. Lam, A. Qin, Y. Tang, B. Z. Tang, *Adv. Mater.*, **2014**, 26, 5429.
10. G. Feng, R. T. K. Kwok, B. Z. Tang, B. Liu, *App. Phys. Rev.*, **2017**, 4, 021307.
11. M. Huang, R. Yu, K. Xu, S. Ye, S. Kuang, X. Zhu, Y. Wan, *Chem. Sci.*, **2016**, 7, 4485.
12. G. I. Likhtenstein, K. Ishii, S. Nakatsuji, *Photochem. Photobiol.*, **2007**, 83, 871.
13. M. Ibarra-Rodríguez, B. M. Muñoz-Flores, V. M. Jiménez-Pérez, *J. Lumin.*, **2018**, 198, 342.
14. Y. Tao, K. Yuan, T. Chen, P. Xu, H. Li, R. Chen, C. Zheng, L. Zhang, W. Huang, *Adv. Mater.*, **2014**, 26, 7931.
15. P. Ioniță, *Radicali liberi persistenti în exemple și aplicații*, Ars Docendi, **2010**.
16. J. P. Blinco, K. E. Fairfull-Smith, B. J. Morrow, S. E. Bottle, *Aust. J. Chem.*, **2011**, 64, 373.

Capitolul 2. Sinteza de noi bis-*N*-acilhidrazone cu proprietăți fluorescente

În prezenta teză de doctorat ne-am îndreptat atenția asupra hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor, datorită particularităților structurale, dar și multipelor aplicații descrise în literatură, mai ales în ceea ce privește capacitatea de a forma complecși metalici.^{1, 4} Deși au fost intens studiate, sunt puține referiri la investigarea proprietăților optice (de absorbție și emisie) sau la abilitatea de modificare conformațională și configurațională.

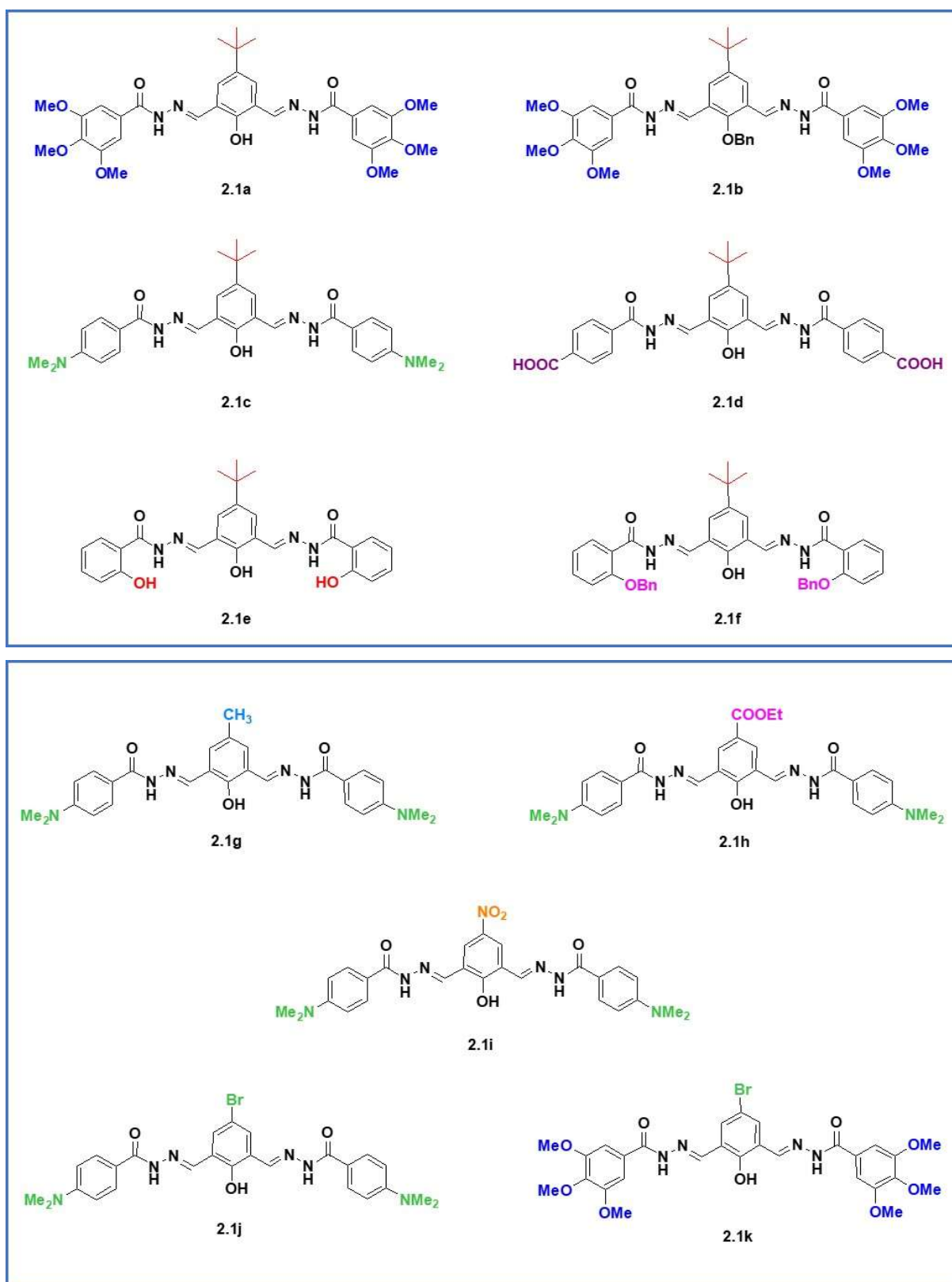
Hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonele (Schema 2) conțin numeroase grupări capabile să coordoneze ioni metalici precum cupru, zinc, molibden sau lantanide,¹ complexii formați având aplicații ca senzori fluorescenți¹ pentru diferiți analiți sau catalizatori² în reacțiile de oxidare ale alcoolilor. De asemenea, astfel de compuși pot fi utilizați pentru obținerea de geluri cu proprietăți luminescente¹ ca rezultat al agregării moleculare, care are loc în urma adăugării de apă în sistem.



Schema 2. Sinteza hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor

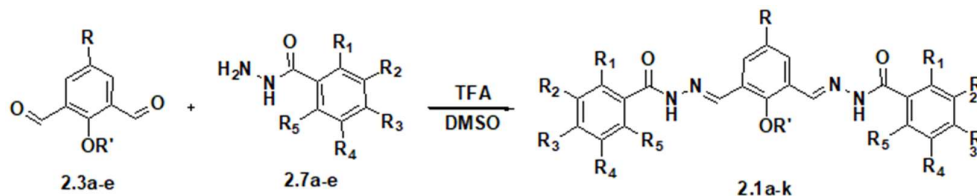
Principalul obiectiv a constat în sinteza unei serii de noi hidroxi-bis-*N*-acilhidrazone, cu diferiți substituenți și studiul comportamentului sub acțiunea diversilor stimuli fizici sau chimici, în scopul utilizării drept comutatoare moleculare. Au fost sintetizate hidroxi-bis-*N*-acilhidrazone cu structură diversă, conținând substituenți atrăgători sau respingători de electroni. Astfel, obiectivele secundare au constat în studiul influenței substituenților asupra proprietăților de absorbție și emisie, dar și modificările structurale pe care hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonele le pot prezenta sub acțiunea a diferiți stimuli (de exemplu: lumină, solvent), în vederea dezvoltării unor posibile aplicații.

Capitolul prezintă sinteza, analiza structurală și investigarea proprietăților fotofizice ale hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor **2.1a-k** (Figura 3) precum și studii cu privire la comportamentul acilhidrazonelor în prezența unor factori precum apă, lumină sau pH și aplicații ale acestora în biochimie.

Figura 3. Structurile hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor 2.1a-k

2.2. Sinteza bis-*N'*-acilhidrazonelor

Sinteza hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor (Schema 3) a fost realizată prin reacția de condensare dintre aldehidele **2.3a-e** și hidrazidele **2.7a-e** folosind ca solvent DMSO, în prezență unei cantități catalitice (2-3 picături) de acid trifluoracetic.



Schema 3. Sinteza hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor

Hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonele **2.1a-k** sunt compuși solizi, de culoare albă sau galbenă (portocaliu în cazul compusului care conține în structura sa gruparea $-\text{NO}_2$), având puncte de topire cuprinse între 150-306°C.

2.3. Analiză structurală

Structura compușilor a fost confirmată prin spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară (^1H , ^{13}C , spectre bidimensionale) și spectrometrie de masă de înaltă rezoluție, utilizând ca sursă de ionizare Ionizarea Chimică la Presiune Atmosferică (APCI-HRMS). Spectrele RMN au fost înregistrate în solvent deuterat (DMSO- d_6) la o frecvență de 500 MHz sau 300 MHz pentru spectrele de proton și 125 MHz sau 75 MHz pentru spectrele de carbon. Pentru confirmarea purității compușilor au fost utilizate cromatografia în strat subțire și temperatura de topire.

2.3.1. Structura în stare solidă

Date suplimentare privind structura compușilor au fost obținute prin difracție de raze X pe monocristal pentru compușii **2.1c** și **2.1j**. Compusul **2.1c** (Figura 4) a fost cristalizat din diferiți solvenți, iar în ambele cazuri cristalizează împreună cu solventul organic, structurile obținute fiind similare.

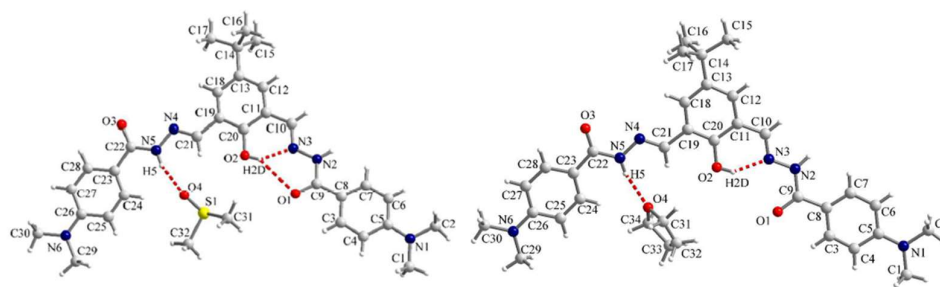


Figura 4. Structurile compusului **2.1c-DMSO** (stânga), **2.1c-THF** (dreapta) obținute prin difracție de raze X pe monocristal

2.4. Proprietăți de absorbție și emisie

Proprietățile fotofizice ale compuşilor sintetizați au fost studiate prin intermediul spectroscopiei UV-Vis și prin spectroscopie de fluorescență, în soluție și în stare solidă.

În general, *N*-acilhidrazonele prezintă solubilitate scăzută în majoritatea solvenților organici, însă hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonele s-au dovedit a fi ușor solubile în solvenți precum DMSO, THF, DMF⁵ și greu solubili în MeOH. Experimentele au fost realizate în DMSO sau amestecuri de DMSO/apă în proporții variabile, la concentrații în domeniul micromolar.

2.4.1. Spectrele de emisie ale hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor în stare solidă

În stare solidă, hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonele emit în regiunile verde și albastră, cu valori ale maximelor de emisie cuprinse între $\lambda_{em}=420$ nm și $\lambda_{em}=565$ nm, după excitație la $\lambda_{ex}=370$ nm sau $\lambda_{ex}=480$ nm (**2.1e**) și deplasări Stokes relativ mari, cu excepția compusului **2.1b** care prezintă grupele -OH fenolice protejate cu grupări benzil.

2.4.2. Spectrele de absorbție în soluție

Spectrele de absorbție ale hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor **2.1a-k** au fost înregistrate într-o primă etapă în DMSO la o concentrație de 2×10^{-5} M.

Compușii **2.1a-f** conțin în structura lor același substituent (*t*-butil) grefat pe nucleul dialdehidei și prezintă un maxim de absorbție în jurul valorii $\lambda_{max}=370$ nm, cu excepția compusului **2.1d** care are grupa hidroxil protejată cu o grupare benzil și prezintă un umăr la $\lambda_{max}=336$ nm. De asemenea, din spectrele de absorbție ale compuşilor **2.1a**, **2.1b**, **2.1d** se poate observa un al doilea maxim de absorbție în jurul valorii de $\lambda_{max}=305$ nm, iar pentru compușii **2.7c**, **2.7e**, **2.7f** cel de-al doilea maxim de absorbție a fost înregistrat la diferite valori.

Spectrele UV-Vis ale compuşilor **2.1a**, **2.1b**, **2.1d**, **2.1e**, **2.1f**, **2.1k** prezintă profil similar datorită structurii similare, dată de prezența substituentului grefat pe restul de aldehydă (excepție **2.1k** similar cu **2.1a** prin prezența grupelor metoxi grefate pe restul de hidrazidă).

Maximele de absorbție înregistrate pentru compușii **2.1a-k** (2×10^{-5} M în DMSO) se datorează tranzițiilor $\pi-\pi^*$ care pot avea loc în cadrul moleculei (de exemplu pe nucleul aromatic, legătura -C=N, etc).

2.4.2. Spectre de fluorescență

Screeningul luminescenței compuşilor prin expunerea la lumina lămpii UV (356nm) a unor soluții de concentrații diferite în DMSO a scos în evidență faptul că la o concentrație mare (10^{-4} M)

emisia este în regiunea portocalie, iar la concentrații scăzute emisia este verde (Figura 5). Toți compușii prezintă un comportament similar, cu excepția **2.1b**, **2.1f** și **2.1i**.

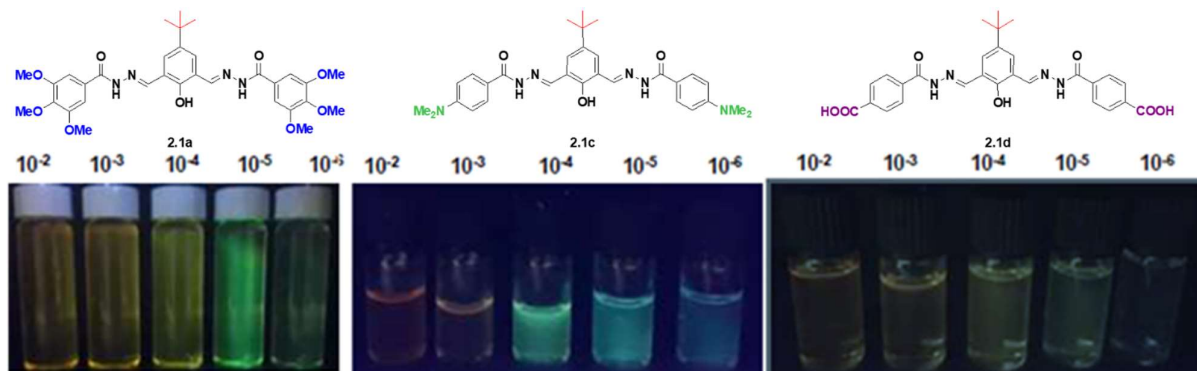


Figura 5. Soluții de diferite concentrații ale compușilor **2.1a** (stânga), **2.1c** (mijloc) și **2.1d** (dreapta), sub lampă UV (365nm)

Spectrele de fluorescență ale compușilor **2.1a-k**, înregistrate la o concentrație de 10⁻⁴ M în DMSO, au pus în evidență benzi de emisie largi, cu maxime cuprinse între λ_{em} =440-590 nm, prin excitare la λ_{ex} =370 nm (Figura 6).

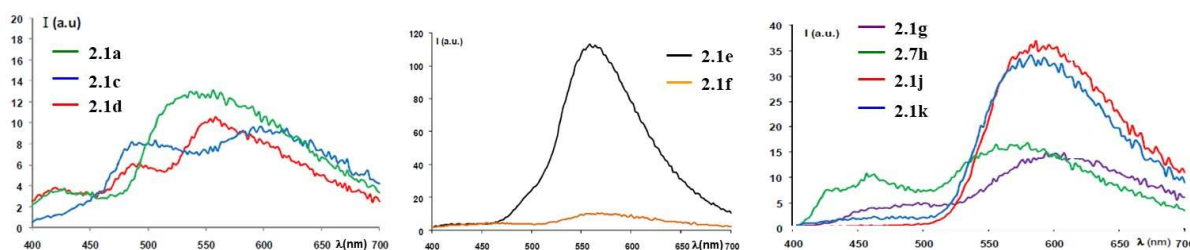


Figura 6. Spectrele de emisie ale compușilor **2.1a-d** (stânga), **2.1e-f** (mijloc) și **2.1j-k** (dreapta) în soluție (10⁻⁴ M în DMSO) obținute prin excitare la λ_{ex} =370 nm

Excitarea la lungimi de undă cuprinse între λ_{ex} =420-460 nm, a condus la deplasarea maximelor de emisie către albastru, acestea fiind situate în jurul valorii de λ_{em} =500 nm (Figura 7).

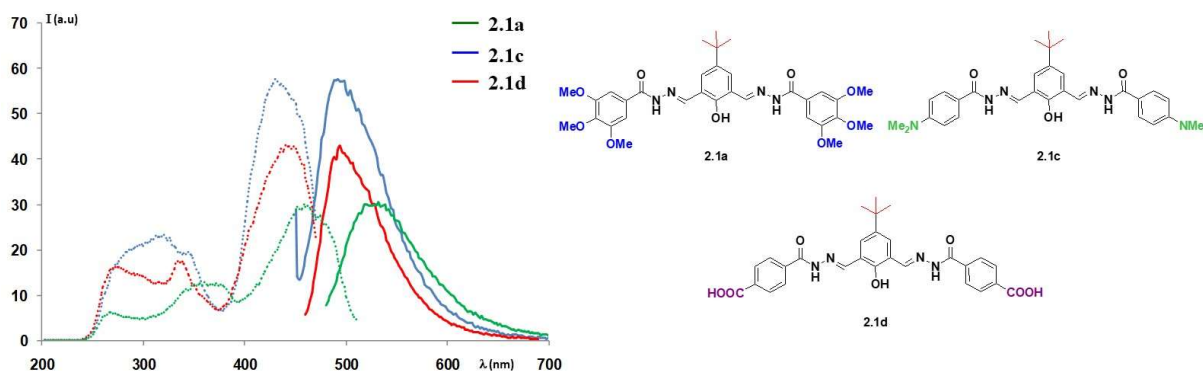


Figura 7. Spectrele de excitare (linie punctată) și emisie (linie) pentru compușii **2.1a**, **2.1c** și **2.1d** în DMSO (10⁻⁴ M)

Diferențele semnificative între spectrele de excitare și spectrele de absorbție (Figura 8) indică faptul că fluorescența se datorează procesului de transfer de protoni intramolecular care are loc în stare excitată (ESIPT - *Excited-State Intramolecular Proton Transfer*).

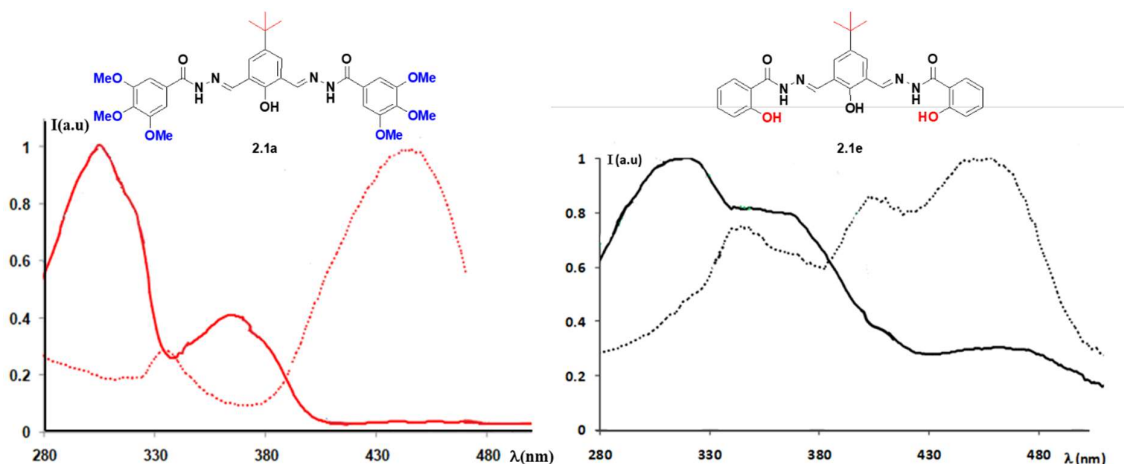


Figura 8. Spectrele de absorbție (linie) și excitare (linie punctată) pentru compușii **2.1a** și **2.1e** în DMSO (10^{-4} M)

2.4.3. Investigarea proprietăților de comutare moleculară a hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor sub influența apei

În contextul literaturii existente⁴ și a observațiilor proprii privind compușii **2.1a-k**, am studiat comportamentul acestora la adăugarea de apă peste soluțiile în solvent organic și am investigat proprietățile fotofizice în prezența unor cantități variabile de apă (pană la 90%) ale bis-*N*-acilhidrazonelor **2.1a-k**.

Rezultatele obținute prin înregistrarea spectrelor de absorbție și emisie de fluorescență ale compușilor **2.1a-k** în DMSO și amestecuri de DMSO/apă indică prezența fenomenului de transfer intramolecular de protoni (ESIPT) până la o cantitate de apă de 50%. La procente de apă mai mari de 50% emisia de fluorescență se datorează fenomenului de agregare moleculară (AIE). Compușii prezintă emisie de lumină în DMSO, care variază de la galben-portocaliu la verde în funcție de concentrație (Figura 9). În amestecurile DMSO/apă intensitatea emisiei de fluorescență scade, iar maximele de emisie sunt deplasate spre lungimi de undă mai mari comparativ cu cele înregistrate pentru soluțiile în DMSO (Figura 9).

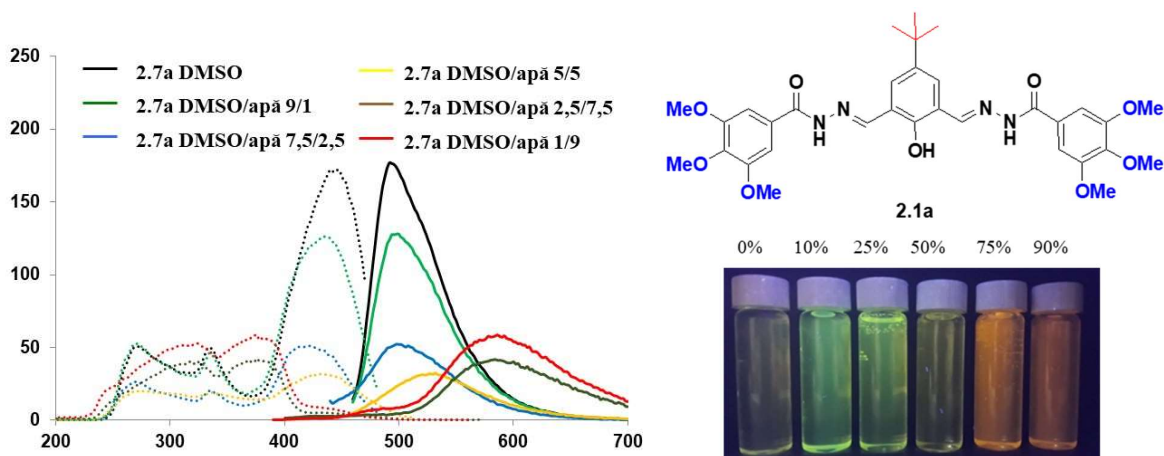


Figura 9. Spectrele de excitare și emisie de fluorescență ale compusului **2.1a** în DMSO și amestecuri de DMSO/apă

2.4.3.1. Comutatoare moleculare

a) Comportamentul în prezența apei

Caracterul de comutatoare moleculare al hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor sub influența apei a fost studiat prin realizarea unui experiment care a constatat în adăugarea și eliminarea de apă într-o soluție în DMSO a compusului **2.1a**, care cauzează modificarea culorii de emisie de la portocaliu la verde (Figura 10). Modificarea culorii emisie de fluorescență este cauzată modificărilor conformaționale care pot avea loc prin adăugarea sau îndepărtarea apei din sistem.

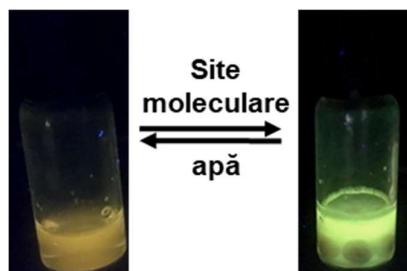


Figura 10. Soluții ale compusului **2.1a** în DMSO/apă=1:9 și schimbarea reversibilă a fluorescenței sub lampa UV după modificarea cantității de apă prin acțiunea sitelor moleculare

Comutarea între cele mai probabile specii, sub influența apei, a fost studiată prin intermediul spectroscopiei RMN.

b) Lumină

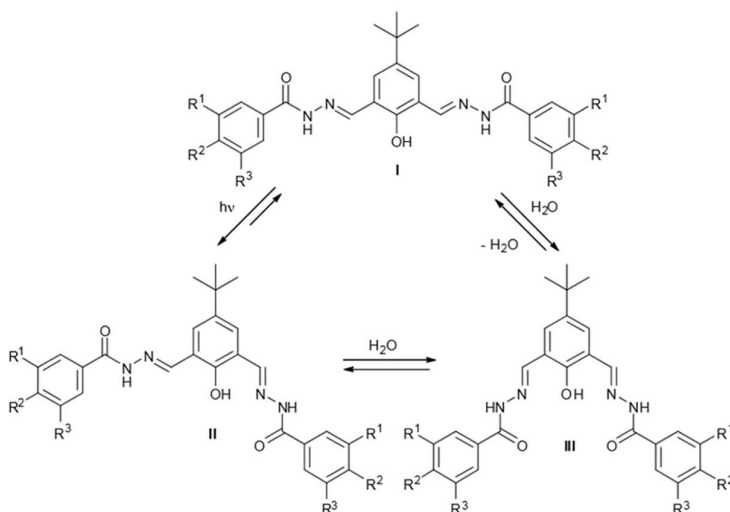
Abilitatea grupării $-C=N$ din structura *N*-acilhidrazonelor de a izomeriza prin intermediul rotației legăturii duble în afara planului sau a inversiei atomului de azot în plan,⁵ stau la baza definirii conceptuale a proprietăților de comutare ale acestora sub influența luminii, a proceselor redox sau a ionilor metalici.⁶ În general, izomerizarea are loc când cel mai instabil dintre izomeri poate fi stabilizat printr-o interacție necovalentă, cum este cazul legăturii de hidrogen.

Pentru a putea verifica dacă *N*-acilhidrazonele sintetizate au un astfel de comportament, au fost studiați compușii **2.1a-d** în soluții de DMSO (10^{-4} M) și amestecuri de DMSO/apă (10^{-4} M) după iradiere la $\lambda=356$ nm. Iradierea soluțiilor în DMSO, urmată de înregistrarea spectrelor de absorbție indică o scădere a intensității maximelor de absorbție și pun în evidență efectul luminii asupra structurii compușilor.

Spectrele de fluorescență ale soluțiilor iradiate prezintă o creștere a intensității benzii corespunzătoare formei enolice, dar și o scădere a intensității fluorescenței când este utilizată ca lungime de undă de excitare $\lambda_{ex}=440$ nm. Modificarea spectrelor poate fi explicată prin schimbările structurale care conduc la formarea de noi specii care nu pot realiza legăturile de hidrogen necesare ca procesul de transfer de protoni intramolecular în stare excitată (ESIPT) să aibă loc. Studiile de rezonanță magnetică nucleară efectuate în aceste condiții nu prezintă însă modificări semnificative ale spectrelor ceea ce indică o stabilitate foarte redusă a speciilor generate prin iradiere, cel mai probabil din cauza împedicii sterice și a lipsei unui element stabilizator în structura moleculară (de exemplu o grupă capabilă de a realiza legături de hidrogen care să stabilizeze specia mai puțin stabilă, astfel încât să poată fi studiată pe scala de timp a RMN).

Iradierea soluțiilor realizate în amestec de DMSO/apă a evidențiat, prin măsurătorile de absorbție și emisie de fluorescență, că modificările structurale pot avea loc până la o cantitate de 50% de apă. După acest procent fenomenul de agregare moleculară devine activ, iar lumina nu mai poate induce nici o schimbare conformațională/configurațională.

Așadar, în urma rezultatelor obținute, se poate afirma că derivații **2.1a-k** au capacitatea de interconvertire din forma de tip *W* (structura I - Schema 4) în formele de tip *S* sau *U* (structura II, structura III - Schema 4) și pot funcționa în soluție drept comutatoare moleculare datorită schimbărilor conformaționale sub acțiunea luminii sau solventului (apă sau glicerol).



Schema 4. Modificările conformaționale care pot avea loc sub influența luminii și/sau solventului pentru compușii **2.1a-k**

2.4.4. Răspunsul la pH al compusului 2.1e

Compusul **2.1e** prezintă în structura sa trei grupe hidroxil capabile să coordoneze ioni metalici sau anioni, cunoscute fiind în literatură abilitatea mare de coordinare și utilizarea acestor tipuri de hidroxi-bis-*N*-acilhidrazone ca liganzi pentru ioni metalici.² În acest context, a fost testată calitativ o serie de anioni: carbonat, bicarbonat, fosfat acid, fosfat, sulfat, tiocianat, cianat, tioacetat, acetat, clorura, iodură, fluorură, bromură, nitrat, nitrit, iodat, bromat, azidă care au fost adăugate individual la o soluție a compusului **2.1e** în amestec de DMSO/apă în raport 1:9 (v/v).

Prin expunerea la lampa UV (365 nm) a amestecurilor am observat modificarea culorii de la galben-portocaliu la verde când a fost adăugat carbonat, bicarbonat, fosfat sau fluorură, dar și o creștere a emisiei fluorescenței în prezența ionilor hidroxil. Modificarea culorii de emisiei se datorează deprotonării grupelor hidroxil din structura compusului **2.1e** de către ionii carbonat, bicarbonat, fosfat, fluorură sau hidroxid, care prezintă caracter bazic.

Titrare cu o soluție apoasă de hidroxid de sodiu a condus la o deplasare a maximului de emisie de la $\lambda_{em}=590$ nm la $\lambda_{em}=545$ nm ($\lambda_{ex}=370$ nm) și o creștere a intensității fluorescenței de aproximativ 100 de ori după depășirea stoechiometriei (Figura 11).

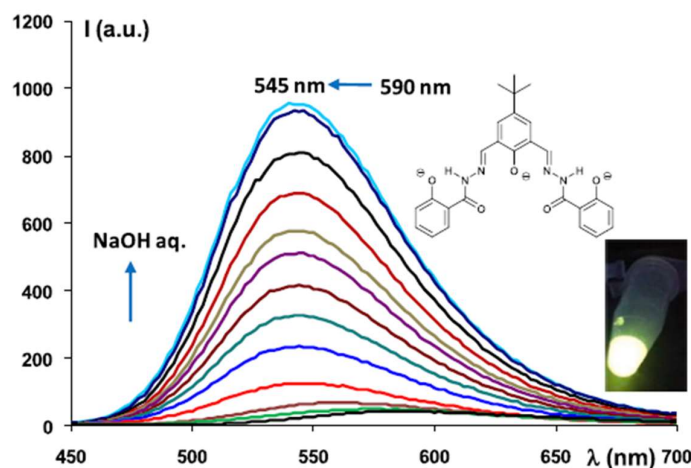


Figura 11. Spectrele de emisie ($\lambda_{exc}=370$ nm) ale compusului **2.1e** (10^{-4} M concentrație finală în 1% DMSO în apă) după adăugarea a diferite cantități de NaOH (până la 80 de echivalenți în raport cu compusul **2.1e**). Inset: structura propusă pentru compusul **2.1e** la pH bazic; Foto: expunere la lampa UV (365nm) a soluției compusului **2.1e** după adăugarea de NaOH

Studiul variației fluorescenței în funcție de pH a fost realizat prin înregistrarea spectrelor de emisie de fluorescență a unor soluții ale compusului **2.1e** pentru valori ale pH-ului cuprinse între 5,8-8,0 și respectiv pentru valori ale pH-ului cuprinse între 8,6-10,6. Odată cu creșterea valorii pH-ului s-a observat deplasarea maximului de emisie concomitent cu creșterea intensității maximului de emisie, dar și a benzii de emisie de la $\lambda_{em}=420$ nm. Reprezentarea grafică a raportului intensităților de emisie I_{590}/I_{520} în funcție de pH a condus la obținerea a două puncte de inflexiune aproximativ la pH=7,0 și respectiv pH=8,9, care corespund celor două trepte de ionizare.

Pentru a putea verifica cauza modificării culorii de emisie, observată prin adăugarea hidroxidului de sodiu, au fost înregistrate spectrele RMN în prezența D₂O și a NaOD.

Conform rezultatelor obținute conformația posibilă în care legătura dublă C=N are configurația *E* este stabilizată de adăugarea de apă în soluție fapt care reiese și din spectrele bidimensionale înregistrate pentru soluțiile cu un conținut de apă de 30% în DMSO în care au fost adăugate diferite cantități de hidroxid de sodiu deuterat (NaOD). Spectrele pun în evidență o distanță de cuplare mare între protonii fenilici și cei iminici.

Așadar, experimentele arată că speciile prezentate mai sus (Schema 5) au cea mai mare probabilitate să existe în soluție după adăugarea hidroxidului de sodiu, iar fluorescența verde este cel mai probabil consecința sarcinii nete negative care poate induce transferul de protoni intramolecular în stare excitată (ESIPT), în urma fotoiradierii, prin intermediul legăturii de hidrogen formate între gruparea –NH și restul de hidrazidă.

2.5. Aplicații în marcarea celulelor ale compusului 2.1e

Verificarea abilității de colorare a celulelor utilizând compusul **2.1e** a fost realizată într-o primă etapă pentru celule eucariote de *Saccharomyces cerevisiae*, care au fost utilizate drept model.

Celulele expuse la radiația UV devin fluorescente după aproximativ 10 secunde, profilul de fluorescență indicând în urma experimentelor de colorare simultană cu **2.1e** și DiOC₆ (iodură de 3,3'-dihexiloxacarbocianină) acumularea compusului **2.1e** la nivelul membranei reticulului endoplasmatic.

Colorarea simultană cu *N*-acilhidrazona **2.1e** și DiOC₆ indică acumularea ambilor coloranți la nivelul membranei reticulului endoplasmatic. Experimentele efectuate au indicat prezența grupelor hidroxil ca fiind o condiție esențială pentru vizualizarea reticulului endoplasmatic.

2.6. Concluzii

Capitolul descrie sinteza de noi hidroxi-bis-*N*-acilhidrazone ale căror modificări structurale pot conduce la diferite proprietăți și aplicații. Experimentele realizate demonstrează că hidroxi-*N*-acilhidrazonele pot fi utilizate în cadrul aplicațiilor bazate pe molecule capabile să emită fluorescență prin transfer intramolecular de protoni în stare excitată (ESIPT), proprietățile fiind influențate de polaritatea solventului și de efectele mesomerice dictate de particularitățile structurale pe care acești compuși le prezintă. Modificările conformaționale și fototautomerizarea conduc la emisia de fluorescență.

O condiție structurală esențială a compușilor sintetizați, pentru apariția fenomenului de emisie de fluorescență datorat agregării moleculare (AIE), în soluțiile realizate în amestec de DMSO/apă se referă la existența a două grupări de tip *N*-acilhidrazonă, dat fiind faptul că experimentele dovedesc

că prezența unei singure grupări nu poate conduce la apariția fenomenului de AIE. Prezența unei grupări protectoare precum gruparea benzil induce procesul de gelificare în prezența apei, furnizând un gel cu fluorescență albastră care confirmă încă o dată versatilitatea acestei clase de compuși.

Majoritatea *N*-acilhidrazonelor sintetizate prezintă fluorescență în stare solidă în regiunea galbenă până la portocaliu. Culoarea emisiei nu depinde de numărul de grupări de tip *N*-acilhidrazonă, însă substituenții o influențează, iar diversificarea structurală poate conduce la noi molecule care își pot găsi diferite aplicații în chimia materialelor.

Culoarea emisiei poate fi modificată în funcție de concentrație sau de cantitatea de apă adăugată și se datorează proceselor conformaționale care pot avea loc. Această proprietate a *N*-acilhidrazonelor poate fi utilizată pentru dezvoltarea de noi aplicații precum senzori pentru diferiți ioni sau comutatoare moleculare.

Studiile cu privire la comportamentul acestor compuși după expunere îndelungată la lampa UV (365 nm) au condus la concluzia că fotoizomerizarea are loc cu dificultate pentru bis-*N*-acilhidrazone, însă acest lucru poate fi optimizat prin modificări structurale, astfel încât procesul de izomerizare să aibă loc și izomerul *Z* să fie stabilizat.

Emisia de fluorescență a bis-*N*-acilhidrazonelor la diferite valori ale pH-ului a fost asociată modificărilor conformaționale, investigate prin experimentele de rezonanță magnetică nucleară.

În plus, bis-hidroxi-bis-*N*-acilhidrazona sintetizată (**2.1e**) a fost utilizată în marcarea reticulului endoplasmatic al celulelor eucariote (*S. cerevisiae*) sau ale mamiferelor (fibroblaste CCD și celule de HeLa), experimentele demonstrând totodată că acest compus prezintă un efect citotoxic redus, este stabil chimic în mediu apos și inert la activitatea intracelulară.

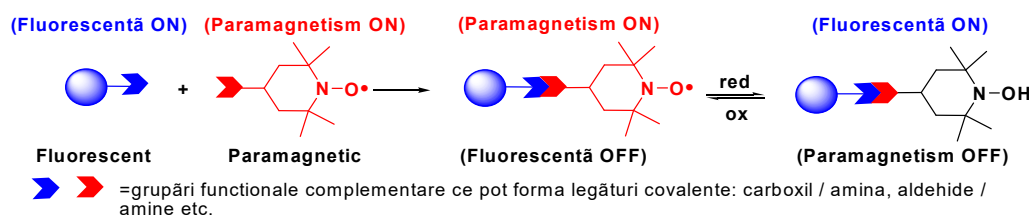
Așadar, fluorescența generată de modificările conformaționale sau configuraționale reprezintă o strategie utilă pentru dezvoltarea de noi sisteme fluorescente care pot fi modificate controlat și reversibil, spre deosebire de diversificarea structurală prin modificări chimice care asigură doar o modificarea a emisiei.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. a) K. Das, S. Nandi, S. Mondal, T. Askun, Z. Cantuk, P. Celikboyun, C. Massera, E. Garribba, A. Datta, C. Sinha, T. Akitsug, *New J. Chem.*, **2015**, 39, 1101; b) F. B. Tamboura, O. Diouf, A. H. Barry, M. Gaye, A. S. Sall, *Polyhedron*, **2012**, 43, 97.
2. a) T. Mistri, M. Dolai, D. Chakraborty, A. R. Khuda-Bukhsh, K. K. Das, M. Ali, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, 10, 2380; b) S. Anbu, R. Ravishankaran, M. F. C. Guedes da Silva, A. A. Karande, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chem.*, **2014**, 53, 6655; c) S. Anbu, S. Kamalraj, C. Jayabaskaran, P. S. Mukherjee, *Inorg. Chem.*, **2013**, 52, 8294; d) J. C. Qin, B. D. Wang, Z. Yin Yang, K. C. Yu, *Sens. Actuator B-Chem.*, **2016**, 224, 892.
3. S. Anbu, E. C. B. A. Alegria, A. J. L. Pombeiro, *Inorg. Chim. Acta*, **2015**, 431, 139. b) M. R. Maurya, S. Dhaka, F. Avecilla, *New J. Chem.*, **2015**, 39, 2130.
4. A. Maity, F. Ali, H. Agarawal, B. Anothumakkool, A. Das, *Chem. Commun.*, **2015**, 51, 2130.
5. V. Zinchuk, O. Zinchuk, T. Okada, *Acta. Histochem. Cytochem.*, **2007**, 40, 101.
6. J. Wu, W. Liu, J. Ge, H. Zhang, P. Wang, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 3483.
7. S. M. Landge, E. Tkatchouk, D. Benítez, D. A. Lanfranchi, M. Elhabiri, W. A. Goddard, I. Aprahamian, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, 133, 9812; b) J. -M Lehn, *Chem. Eur. J.*, **2006**, 12, 5910.
8. <https://www.promega.com/~media/files/resources/paguide/a4/chap15a4.pdf?la=en>
9. http://wolfson.huji.ac.il/purification/PDF/Buffers/Calbiochem_Buffers_Booklet.pdf
10. A.J. Koning, P.Y. Lum, J.M. Williams, R. Wright, *Cell Motil Cytoskeleton*, **1993**, 25, 111

Capitolul 3. Sinteza de noi nitroxizi cu proprietăți duale: luminescență și paramagnetism

Conceptul de bază (Schema 6) pentru designul nitroxizilor profluorescenți constă în legarea covalentă a unei molecule care prezintă emisie de fluorescență (*fluorescență ON*) la un radical liber stabil (*paramagnetism ON*).



Schema 5. Reprezentarea schematică a sintezei nitroxizilor profluorescenți; redobândirea fluorescenței prin reducerea nitroxidului profluorescent la hidroxilamina corespunzătoare

Molecula hidrid obținută își pierde fluorescența (*fluorescență OFF*) dar își păstrează proprietățile paramagnetice (*paramagnetism ON*) (Schema 6). Reducerea radicalului liber sau reacția acestuia cu altă specie inversează cele două proprietăți, iar derivatul își redobândește fluorescența (*fluorescență ON*), dar pierde proprietățile paramagnetice (*paramagnetism OFF*) (Schema 6).¹

Derivatizarea cu radicali liberi stabili a oxadiazolilor permite obținerea de noi compuși hibrizi multifuncționali, ale căror proprietăți pot fi ușor controlate prin diverse procedee fizice sau chimice (variația pH-ului, lumina, potențialul redox etc.). Cumulul acestor proprietăți diferite generează apariția unor noi caracteristici, care pot fi exploatate prin utilizarea acestor compuși ca senzori sau markeri în cadrul a diferite sisteme chimice sau biochimice.

În capitolul de față, ne-am îndreptat atenția asupra a două mari obiective:

- sinteza de noi nitroxizi profluorescenți derivați de la 1,3,4-oxadiazoli;
- sinteza de noi nitroxizi profluorescenți derivați de la 1,2,5-oxadiazoli.

Nitroxizii profluorescenți derivați de la 1,3,4-oxadiazoli propuși a fi sintetizați sunt prezentați în Figura 12, structura acestora îndeplinind *a priori* condițiile necesare unor nitroxizi profluorescenți.

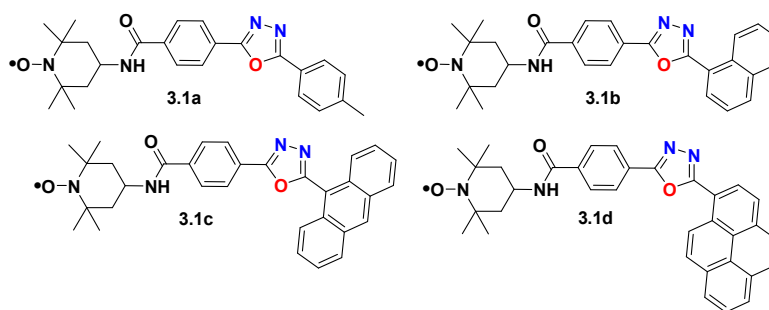


Figura 12. Structura nitroxizilor profluorescenți 3.1a-d

Nitroxidului profluorescent **3.2** (Figura 13) derivat de la 4-cloro-7-nitro-1,2,3-benzoxadiazol (NBD-Cl) conține în structura sa un eter coroană (Kryptofix 22).

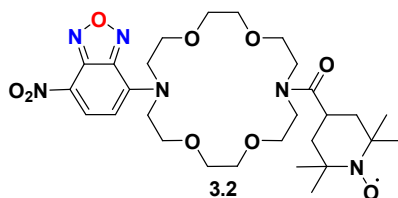
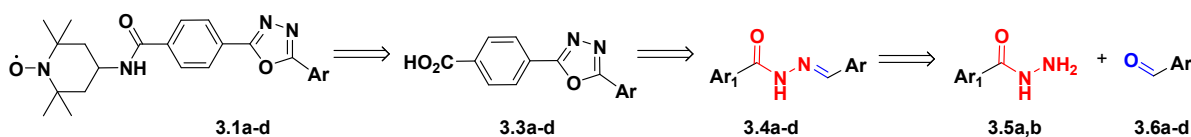


Figura 13. Structura nitroxidului profluorescent **3.2**

3.2. Retrosinteza nitroxizilor profluorescenți

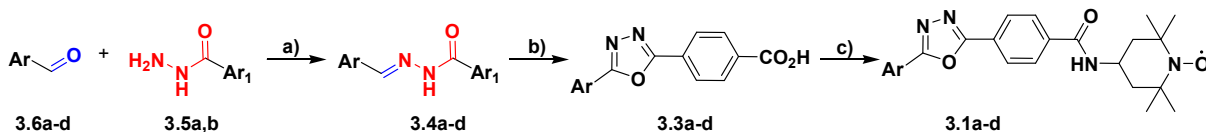
Nitroxizii profluorescenți **3.1a-d** propuși a fi sintetizați (Figura 12) conțin în structura lor o legătură amidică, care se poate realiza prin reacția dintre oxadiazoli funcționaliizați cu grupări carboxil **3.3a-d** și un derivat al radicalului stabil TEMPO. Legătura amidică formată a fost aleasă ca spacer între partea fluorescentă și partea paramagnetică datorită stabilității ridicate în reacțiile de reducere. Derivații oxadiazolici funcționaliizați cu grupări carboxil **3.3a-d** pot fi obținuți printr-o reacție de ciclizare oxidativă a *N*-acilhidrazonelor **3.4a-d**. Acestea din urmă se formează în urma reacției dintre aldehidele **3.6a-d** și hidrazidele **3.5a,b**.



Schema 6. Schema retrosintetică de obținere a 1,3,4-oxadizoli profluorescenți

3.3. Sinteza nitroxizilor profluorescenți

Pe baza analizei retrosintetice am realizat sinteza nitroxizilor profluorescenți **3.1a-d** în trei etape (Schema 8). Prima etapă a constat în sinteza *N*-acilhidrazonelor **3.4a-d** printr-o reacție de condensare între aldehidele **3.6a-d** și hidrazidele **3.5a,b** în cataliză acidă. Următoarea etapă a constat în sinteza 1,3,4-oxadiazolilor **3.3a-d** printr-o reacție de ciclizare oxidativă a *N*-acilhidrazonelor **3.4a-d**, folosind iod molecular ca agent de ciclizare. În ultima etapă, 1,3,4-oxadiazolii **3.3a-d** au fost tratați cu 4-amino TEMPO, folosind condițiile de reacție specifice sintezei de peptide, pentru a obține nitroxizii profluorescenți **3.1a-d**.



Schema 7. Schema de sinteză a 1,3,4-oxadizoli profluorescenți: a) CHCl_3/DMF , reflux; b) I_2/DMSO , 100°C ; c) 4-amino TEMPO, PyBOP, DIPEA, DCM

3.4. Analiza structurală a compușilor sintetizați

Structura compușilor sintetizați a fost confirmată utilizând spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (^1H , ^{13}C , spectre bidimensionale) și spectrometria de masă de înaltă rezoluție, utilizând ca sursă de ionizare Ionizarea Chimică la Presiune Atmosferică (APCI-HRMS). Spectrele RMN au fost înregistrate în solvent deuterat DMSO- d_6 , la o frecvență de 500 MHz pentru spectrele de proton și 125 MHz pentru spectrele de carbon.

Structura compușilor **3.1a-d** a fost confirmată utilizând spectroscopia electronică de spin, spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (^1H , ^{13}C , spectre bidimensionale) și spectrometria de masă de înaltă rezoluție utilizând ca sursă de ionizare Ionizarea Chimică la Presiune Atmosferică (APCI-HRMS). Spectrele RMN au fost înregistrate în solvent deuterat (CDCl_3) folosind un agent reducător (fenilhidrazina), la o frecvență de 500 MHz pentru spectrele de proton și 125 MHz pentru spectrele de carbon. De asemenea, spectrele de masă de înaltă rezoluție au fost realizate în prezența unui agent reducător (acid trifluoracetic). Pentru confirmarea purității compușilor au fost utilizate cromatografia în strat subțire și determinarea temperaturii de topire.

3.4.1. Voltametrie ciclică

Studiile de voltametrie ciclică realizate pentru compușii nitroxizii profluorescenți sintetizați arată ca are loc un proces de oxidare reversibil ce corespunde formării cationilor de oxoamoniu și prezintă un potențial de pic anodic (E_{pa}) cu valori cuprinse între 0,5 V și 0,88 V.

3.4.2. Structura în stare solidă a nitroxidului 3.1d

Difuzia lentă a nitroxidului **3.1d** în diclorometan/eter de petrol a condus la obținerea de monocristale care au fost analizate prin intermediul difracției de raze X.

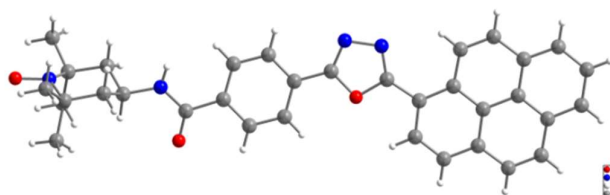


Figura 14. Structura compusului **3.1d** obținută prin difracție de raze X pe monocristal

3.5. Investigarea proprietăților fotofizice ale 1,3,4-oxadiazolilor și ale nitroxizilor profluorescenți

Investigarea proprietăților fotofizice ale compușilor sintetizați s-a realizat prin intermediul spectroscopiei UV-Vis înregistrând spectrele de absorbție și, respectiv, prin intermediul spectroscopiei de fluorescență, atât în soluție, cât și în stare solidă, înregistrând spectrele de excitare

și emisie. Au fost studiați precursorii oxadiazolici **3.2a-d**, nitroxizii **3.1a-d** și hidroxilaminele corespunzătoare, obținute în urma reducerii nitroxizilor. Experimentele au fost realizate folosind o soluție apoasă, la concentrații în domeniul micromolar.

3.5.1. Proprietăți de absorbție și emisie ale 2,5-diaril -1,3,4-oxadiazolilor

Spectrele de absorbție (Figura 15) au fost înregistrate la o concentrație de $2,7 \times 10^{-5}$ M, în soluție tampon HEPES (0,001 M, pH=7,51) cu un conținut de 15% DMSO. Spectrele prezintă benzi specifice tranzițiilor $\pi-\pi^*$ datorate nucleului oxadiazolic⁵ dar și tranziții caracteristice nucleului antracenic⁶ sau pirenic⁷, cu maxime de absorbție cuprinse între $\lambda_{\text{max}}=294$ nm și $\lambda_{\text{max}}=390$ nm.

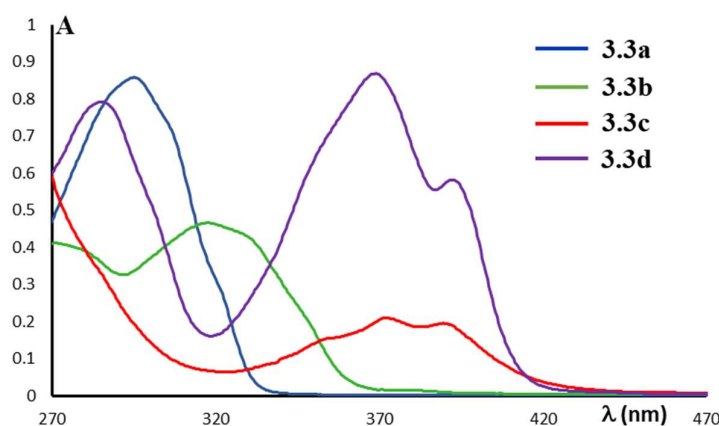


Figura 15. Spectrele de absorbție (în soluție) ale oxadiazolilor **3.3a-d**

De asemenea, spectrele de excitare (Figura 16), prezintă benzi care pot fi atribuite tranzițiilor $\pi-\pi^*$ din structura nucleului oxadiazolic⁵ pentru compușii **3.3a** ($\lambda_{\text{max}}=294$ nm) și **3.3b** ($\lambda_{\text{max}}=323$ nm), dar și benzi care corespund tranzițiilor specifice nucleului antracenic⁸ sau pirenic⁷ în cazul compușilor **3.3c** ($\lambda_{\text{max}}=370$ nm) și, respectiv, **3.3d** ($\lambda_{\text{max}}=360$ nm).

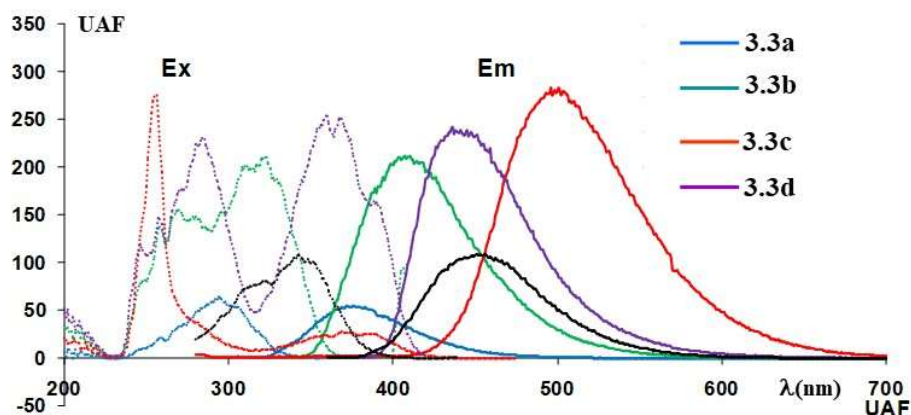


Figura 16. Spectrele de excitare (linii punctate) și emisie (linii de fluorescență în soluție) ale oxadiazolilor **3.3a-d**

Spectrele de emisie înregistrate pe compușii **3.3a-d** în stare solidă indică o deplasare a maximelor de emisie, spre regiunea roșie, pentru toți compușii, ceea ce conduce la deplasări Stokes foarte largi.

3.5.2. Proprietăți de absorbție și emisie ale nitroxizilor profluorescenți

Spectrele de absorbție ale nitroxizilor profluorescenți **3.1a-d** au fost înregistrate în aceleași condiții ca precursorii acestora (**3.3a-d**). Profilul benzilor de absorbție este similar cu cel al oxadiazolilor **3.3a-d**, cu maxime de absorbție cuprinse între $\lambda_{\text{max}}=296$ nm și $\lambda_{\text{max}}=392$ nm.

Maximele de excitare prezintă deplasări spre regiunea roșie, comparativ cu carboxi-derivații, fiind cu 20 nm mai deplasate în cazul compușilor **3.1b** și **3.1d**, cu 12 nm pentru compusul **3.1a**, în timp ce compusul **3.1c** nu prezintă nici o modificare a maximului de excitare. Deplasările Stokes au valori între 92-124 nm, fiind aproximativ egale cu cele ale carboxi-derivaților.

Atașarea radicalului liber la carboxi-derivații obținuți anterior conduce la stingerea fluorescenței⁹, iar acest aspect poate fi observat în spectrele de emisie de fluorescență înregistrate pentru soluțiile nitroxizilor (Figura 17), dar și în cele pe solid.

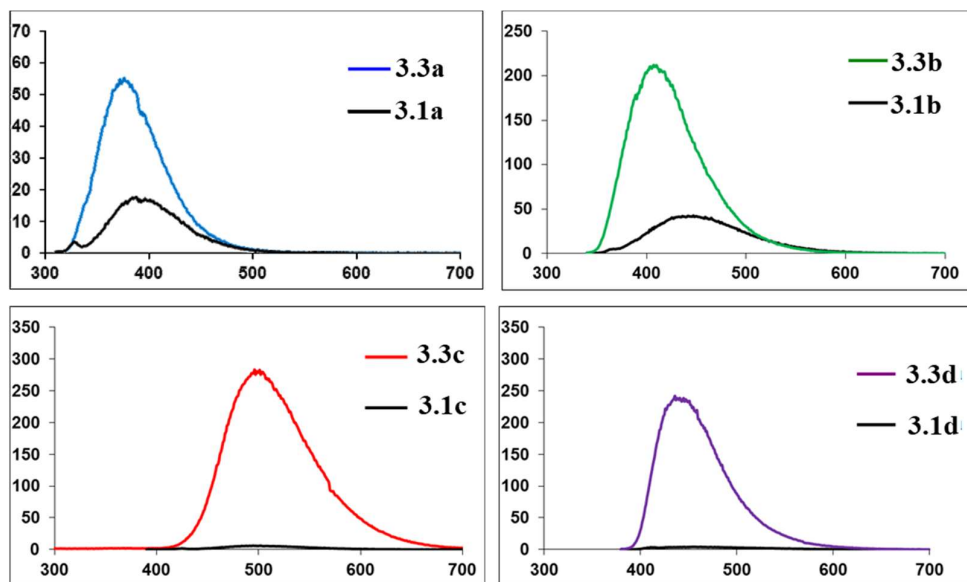


Figura 17. Spectrele de emisie (în soluție) ale nitroxizilor **3.1a-d** (linii negre) și spectrele de emisie ale carboxi-derivaților **3.3a-d**

3.5.2.1. Investigarea proprietăților duale ale nitroxizilor profluorescenți

Verificarea reducerii nitroxizilor la hidroamilaminele corespunzătoare a fost realizată prin studii RES în prezența ascorbatului de sodiu⁹ sau a fenilhidrazinei în diferite rapoarte molare între nitroxizi și agenții de reducere. Experimentele au fost realizate într-o soluție degazată de HEPES 0,01M pH=7.51 cu un conținut de 15% DMSO la o concentrație de 5×10^{-5} M.

Utilizarea ascorbatului de sodiu ca agent de reducere într-un raport molar de 1:1 (nitroxid:reducător) a condus la reducerea completă a radicalului într-un interval de 45 de minute pentru compușii **3.1a** și **3.1d**, în timp ce compușii **3.1b** și **3.1c** au fost complet reduși după 120 de minute.

Măsurătorile de fluorescență ale nitroxizilor în prezența ascorbatului de sodiu indică o creștere variabilă a intensității fluorescenței: hidroxilamina corespunzătoare nitroxidului **3.1a** prezintă o creștere a intensității fluorescenței de 5 ori mai mare comparativ cu nitroxidul, hidroxilamina corespunzătoare nitroxidului **3.1b** prezintă o creștere a intensității fluorescenței de 4 ori mai mare, iar cea corespunzătoare nitroxidului **3.1c** de 2 ori mai mare, în timp ce hidroxilamina nitroxidului **3.1d** nu prezintă o creștere semnificativă a intensității fluorescenței.

Utilizarea fenilhidrazinei ca agent reducător a condus la reducerea nitroxizilor după 30 de minute folosind un raport molar de 1:10, în timp ce utilizarea unui raport molar de 1:1 nu a condus la reducerea nitroxizilor.

3.5.2.2. Efectul solventului asupra proprietăților de emisie ale nitroxizilor profluorescenți

Având în vedere rezultatele obținute pentru nitroxidul **3.1d**, a fost studiat efectul solventului asupra proprietăților de emisie și absorbție. Au fost înregistrate spectrele de emisie ale nitroxidului **3.1d** ($5 \times 10^{-5} \text{M}$) și ale hidroxilaminei corespunzătoare (după tratarea soluțiilor de nitroxid cu 10 eq. fenilhidrazină timp de 30 de minute) în solvenți precum: DMSO, MeOH, MeCN și CHCl_3 .

Spectrele de fluorescență înregistrate pentru nitroxidul **3.1d** în diferiți solvenți prezintă un profil similar care nu este influențat de polaritatea solventului utilizat.

Utilizarea amestecului de solvenți apă/DMSO conduce la scăderea dramatică a emisiei de fluorescență a nitroxidului **3.1d**.

După reducerea nitroxidului **3.1d**, intensitatea emisiei de fluorescență și implicit randamentele cuantice obținute sunt considerabil mai mari pentru spectrele înregistrate în solvenți organici, comparativ cu cel obținut în apă/DMSO.

Datele experimentale obținute conduc la concluzia că utilizarea amestecului polar apă/DMSO permite formarea de agregate moleculare datorită interacțiilor care au loc între resturile hidrofobe ale moleculei, generând stingerea fluorescenței.¹⁰

Formarea agregatelor supramoleculare a fost confirmată și prin intermediul spectroscopiei RMN, prin înregistrarea spectrelor ^1H -RMN în CDCl_3 și $\text{DMSO-}d_6$ în prezența unui exces de fenilhidrazină¹¹, pentru reducerea la hidroxilamină.

3.5.2.3. Aplicații

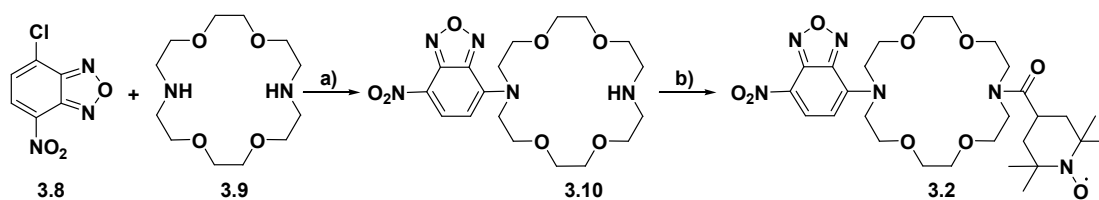
Literatura prezintă exemple de molecule cu caracter dual precum nitroxizii profluorescenți ca fiind utilizate în diferite studii cu privire la proprietățile antioxidante ale acidul ascorbic.¹²

Experimentele au constatat în tratarea soluțiilor de nitroxid **3.1a** cu diferite cantități de ascorbat de sodiu (între 0 și 2 echivalenți) și înregistrarea spectrelor de emisie de fluorescență la intervale de 15 minute.

Rezultatele au confirmat că nitroxidul **3.1a** este complet redus la hidroxilamina corespunzătoare după 45 de minute, ceea ce ar putea indica folosirea acestuia pentru detecția ascorbatului în diferite sisteme biologice.

3.7. Sinteza unui nou derivat profluorescent al 4-cloro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol

Sinteza precursorului **3.10** a fost realizată printr-o reacție de substituție pornind de la furazanul **3.8** (4-cloro-7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol) și azaeterul coroaă **3.9** (1,7,10,16-tetraoxa-4,13-diazaciclooctadecan), cunoscut sub denumirea de Kryptofix 22, reacția având loc în diclorometan folosind ca bază trietilamina (Schema 9). Compusul **3.10** sintetizat anterior a fost utilizat în continuare în reacția de cuplare amidică cu 4-carboxi-TEMPO, folosind PyBOP (benzotriazol-1-il-oxitripirolidinofosfoniu hexafluorofosfat) ca agent de activare și DIPEA (*N,N*-Diisopropiletillamină) ca bază (Schema 9).



Schema 8. Sinteza compușilor **3.10** și **3.2**: a) CH₂Cl₂, Et₃N, rt, peste noapte, 62% b) 4-carboxi-TEMPO, PyBOP, DIPEA, DCM, rt, 4h, 81%.

3.7.1. Analiza structurală

Pentru compusul **3.10** au fost înregistrate spectrele ¹H-RMN și ¹³C-RMN în DMSO-d₆ și CDCl₃ (500MHz pentru proton și 125 MHz pentru carbon).

Compușii care conțin în structura lor radicalul TEMPO pot fi studiați prin intermediul spectroscopiei de rezonanță magnetică nucleară (¹H-RMN și ¹³C-RMN), mai exact spectrele ¹³C-RMN pot oferi informații cu privire la atomii localizați la o distanță destul de mare de centrul radicalic.¹³ Astfel, în cazul nitroxidului **3.10**, spectrul ¹H-RMN prezintă semnale largi și nerezolvate în timp ce spectrul ¹³C-RMN prezintă semnale care au fost atribuite furazanului, eterului coroaă, grupei carbonil implicată în legătura amidică ($\delta=170,2$ ppm), dar și atomilor de carbon din structura radicalului.

3.7.2. Studii de complexare

Studiile de complexare în prezența unor metale alcaline (Li^+ , Na^+ , K^+) realizate pentru compusul **3.9** au fost urmărite prin intermediul spectroscopiei RMN și spectrometriei de masă (HR-MS) pentru a stabili capacitatea acestuia de a forma compuși “gazdă-oaspete”.

Experimentele RMN indică modificări ale semnalelor în cazul adăugării unei soluții de perclorat de potasiu, în timp ce adăugarea unor soluții de perclorat de litiu sau de sodiu nu a generat modificări semnificative.

Experimentele de complexare au fost studiate și prin intermediul spectrometriei de masă (ES(+)-MS). Capacitatea de complexare a ionilor metalelor alcaline (LiClO_4 , NaClO_4 și KClO_4) de către eterul coroană a fost verificată atât prin experimente individuale, cât și prin experimente competitive în cadrul cărora au fost utilizate amestecuri de soluții echimoleculare ale sărurilor celor trei ioni metalici utilizați.

Experimentele individuale au indicat formarea unor complecși supramoleculari între compusul **3.10** și ioni metalici utilizați.

Studiile de complexare ale nitroxidului **3.2** cu cationi ai metalelor alcaline precum LiClO_4 , NaClO_4 , KClO_4 și CsClO_3 au indicat formarea de noi complecși gazdă-oaspete cu toți cei patru cationi folosiți.

3.7.3. Proprietățile de absorbție și emisie

Spectrul de absorbție al compusului **3.10** înregistrat în DMSO la o concentrație de 2×10^{-5} M prezintă două maxime de absorbție la 350 nm și respectiv 500 nm, corespunzătoare tranzițiilor nitrobenzofurazanului¹⁵ ceea ce indică faptul că legarea covalentă a acestuia la eterul coroană nu influențează proprietățile de absorbție ale oxadiazolului. Maximele de absorbție variază în funcție de solventul utilizat, așa cum reiese și din datele de literatură¹⁶, ceea ce confirmă rezultatele obținute și indică un comportament solvatocromic al compusului **3.10**. Pentru compusul **3.2** spectrele de absorbție în soluție au fost înregistrate în aceleași condiții menționate anterior pentru compusul **3.10** și au arătat un profil asemănător datorită prezenței nitrobenzofurazanului.

Spectrele înregistrate în DMSO sau amestec de DMSO/apă (1% DMSO în soluție tampon PBS sau 10% DMSO în apă ultrapură) prezintă un maxim de emisie $\lambda_{\text{em}} = 550$ nm ($\lambda_{\text{ex}} = 500$ nm) corespunzător nitrobenzofurazanului. Intensitatea benzilor de emisie scade odată cu creșterea polarității solventului, ceea ce sugerează stingerea fluorescenței ca rezultat al formării unor agregate moleculare, induse de polaritatea solventului.

Spectrul de fluorescență al compusului **3.10** în stare solidă prezintă un maxim de emisie la $\lambda_{\text{em}} = 564$ nm ($\lambda_{\text{ex}} = 490$ nm), ușor deplasat către roșu comparativ cu spectrele în soluție și cu o

deplasare Stokes de 74 nm. În cazul nitroxidului **3.2** se poate observa un profil similar, intensitatea de emisie fiind mai mica comparativ cu cea înregistrată pentru precursorul său.

De asemenea, prin intermediul studiilor de fluorescență s-a observat că adăugarea unei cantități de 5 ori mai mare de soluție de ioni metalici (LiClO_4 , NaClO_4 , KClO_4 și CsClO_3) la compusul **3.2** conduce la scăderea intensității fluorescenței.

3.8. Concluzii

În acest capitol am prezentat sinteza de noi 2,5-diaril-1,3,4-oxadiazoli (**3.3a-d**) derivați de la *p*-tolil, naftil, antracenil și pirenil care conțin în structura lor o grupare carboxil ce permite funcționalizarea ulterioară. Compușii au fost caracterizați structural, dar și din punct de vedere al proprietăților optice. Experimentele au demonstrat că derivații de la naftil și pirenil prezintă randamente cuantice și deplasări Stokes mari.

Nitroxizii proflorescenți **3.1a-d** au fost obținuți prin reacția dintre 1,3,4-oxadiazoli-2,5-disubstituiți **3.3a** și 4-amino-TEMPO și caracterizați prin spectrometrie RES, RMN, voltametrie ciclică și difracție de raze X. Spectrele RES ale nitroxizilor **3.1a-d** au confirmat atașarea radicalului la carboxi-derivații obținuți. Prezența radicalului liber conferă nitroxizilor proprietăți electrochimice, confirmate prin intermediul voltametriei ciclice.

Spectrele de fluorescență ale nitroxizilor au arătat că în prezența radicalului liber fluorescența este stinsă. Aceasta poate fi redobândită prin reacția nitroxizilor cu un agent reducător (fenilhidrazină, ascorbat de sodiu), ceea ce a făcut posibilă utilizarea compusului care conține unitatea tolil pentru detecția acidului ascorbic.

În continuarea acestor studii a fost realizată sinteza unor compuși de tip fluorofor-aza-eter-coroană și, respectiv, fluorofor-aza-eter-coroană-nitroxid, pentru care au fost investigate structura, proprietățile fotofizice și comportamentul în prezența ionilor metalici alcalini. Confirmarea identității compușilor a fost realizată prin intermediul spectroscopiei RMN (^1H -RMN, ^{13}C -RMN), spectrometrie de masă de înaltă rezoluție și spectroscopie RES (pentru nitroxidul **3.2**). De asemenea, comportamentul compușilor în prezența ionilor metalici Li^+ , Na^+ , K^+ și Cs^+ a fost studiat prin intermediul spectroscopiei RMN și spectrometriei de masă. Spectrele de fluorescență obținute sugerează o interacțiune slabă între fluorofor și radicalul liber, dat fiind faptul că fluorescența se păstrează și în prezența centrului paramagnetic. Stingerea parțială a fluorescenței în stare solidă sau prin adăugarea unei soluții de ion metalic poate fi utilă în diferite domenii, iar astfel de sisteme alcătuite dintr-un fluorofor, un eter coroană și un nitroxid își pot găsi aplicații ca senzori pentru monitorizarea proceselor care au loc în diferite sisteme chimice sau biochimice.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. G. I. Likhtenstein, K. Ishii, S. Nakatsuji, *Photochem. Photobiol.*, **2007**, *83*, 871.
2. Y. Suzuki, T. Katagi, *J. Agric. Food Chem.*, **2008**, *56*, 10811.
3. J. P. Blinco, D. J. Keddie, T. Wade, P. J. Barker, G. A. George, S. E. Bottle, *Polym. Degrad. Stabil.*, **2008**, *93*, 1613.
4. a) V. Bleve, P. Franchi, E. Konstanteli, L. Gualandi, S. M. Goldup, E. Mezzina, M. Lucarini, *Chem. Eur. J.*, **2018**, *24*, 1198; b) H. Dugas, M. Ptak, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1982**, 710; c) M. P. Eastman, D. E. Patterson, *J. Phys. Chem.*, **1982**, *86*, 2052.
5. S. Chen, X. Xu, Y. Liu, W. Qiu, G. Yu, X. Sun, H. Zhang, T. Qi, K. Lu, X. Gao, Y. Liu, D. Zhu, *J. Mater. Chem.*, **2007**, *17*, 3788.
6. A. Paun, C. C. Paraschivescu, M. Matache, V. I. Parvulescu, *Synthesis*, **2016**, *48*, 606.
7. S. Chidirala, H. Ulla, A. Valaboju, M. R. Kiran, M. E. Mohanty, M. N. Satyanarayan, G. Umesh, K. Bhanuprakash, V. J. Rao, *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*, 603.
8. A. Paun, C. C. Paraschivescu, M. Matache, V. I. Parvulescu, *Synthesis*, **2016**, *48*, 606.
9. J. P. Blinco, K. E. Fairfull-Smith, B. J. Morrow, S. E. Bottle, *Aust. J. Chem.*, **2011**, *64*, 373.
10. M. A. Winnik, S. M. Bystryak, Z. Liu, J. Siddiqui, *Macromolecules*, **1998**, *31*, 6855.
11. T. D. Lee, J. F. W. Keana, *J. Org. Chem.*, **1975**, *40*, 3145.
12. G. I. Lichtenshtein, Nitroxides, *Springer*, **2020**.
13. M. Tudose, M. T. Caproiu, F. D. Badea, G. Nedelcu, P. Ionita, T. Constantinescu, A. T. Balaban, *ARKIVOC*, **2011**, *ii*, 343.
14. J. Li, D. Yim, W.-D. Jang, J. Yoon, *Chem. Soc. Rev.*, **2017**, *46*, 2437.
15. M. Bem, M. T. Caproiu, M. Vasilescu, M. Tudose, R. Socoreanu, A. Nicolae, T. Constantinescu, M. D. Banciu, *Rev. Roum. Chim.*, **2003**, *48*, 709.
16. N. N. Mateeva, S. D. Deiab, E. E. Archibong, M. Jackson, B. Mochona, M. Gangapuram, K. K. Redda, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.*, **2010**, *68*, 305.

Concluzii generale

Teza intitulată “*Comutatori organici fotoluminescenți și paramagnetici*” și-a propus sinteza și studiul proprietăților optice ale unor derivați ai *N*-acilhidrazonelor, ai heterociclurilor oxadiazolice și ai nitroxizilor profluorescenți. *N*-acilhidrazonele și heterociclurile oxadiazolice au ca principală proprietate luminescența, astfel de derivați fiind intens studiați în scopul găsirii unor molecule cu proprietăți fluorescente sau fosforescente îmbunătățite, care pot fi utili în dezvoltarea de noi aplicații în domenii precum chimia materialelor, biochimia, biologia sau chimia mediului. Nitroxizii profluorescenți sunt molecule hibrid alcătuite dintr-un fluorofor și un radical liber stabil, care funcționează bimodal, cu posibilitatea de comutare între cele două proprietăți, emisia de fluorescență și paramagnetism.

Teza este structurată în patru capitole, unul dedicat prezentării datelor de literatură, două capitole descriind rezultatele obținute și un capitol conținând partea experimentală detaliată.

Primul capitol “*Fluorescența compușilor organici*” prezintă datele de literatură cu privire la fluorofori, mecanismele de apariție și stingere a fluorescenței, precum și sinteza și aplicațiile *N*-acilhidrazonelor, ale heterociclurilor oxadiazolice și ale nitroxizilor profluorescenți.

Cel de al doilea capitol, “*Sinteza de noi bis-N-acilhidrazone cu proprietăți fluorescente*”, descrie sinteza de noi hidroxi-bis-*N*-acilhidrazone ale căror modificări conformaționale conduc la emisia de fluorescență și diferite aplicații. Experimentele realizate demonstrează că hidroxi-*N*-acilhidrazonele pot fi utilizate ca molecule capabile să emită fluorescență prin transfer intramolecular de protoni în stare excitată (ESIPT), proprietățile de emisie fiind influențate de polaritatea solventului și de efectele mezomerice dictate de particularitățile structurale pe care compușii le prezintă. O condiție structurală esențială pentru apariția fenomenului de emisie de fluorescență datorat agregării moleculare (AIE) în cazul compușilor sintetizați, se referă la existența a două grupări de tip *N*-acilhidrazonă, experimentele dovedind că prezența unei singure grupări nu conduce la apariția fenomenului de AIE. Protejarea grupei hidroxil induce procesul de gelificare în prezența apei, furnizând un gel cu fluorescență albastră care confirmă încă o dată versatilitatea acestei clase de compuși. În plus, culoarea emisiei se poate modifica în funcție de concentrație sau de cantitatea de apă adăugată și se datorează proceselor conformaționale care au loc. Studiile cu privire la comportamentul hidroxi-bis-*N*-acilhidrazonelor sintetizate, după expunere îndelungată la lampa UV (365 nm), au condus la concluzia că fotoizomerizarea are loc cu dificultate pentru bis-*N*-acilhidrazone, însă acest lucru poate fi optimizat prin modificări structurale, astfel încât procesul de izomerizare să aibă loc și izomerul *Z* să fie stabilizat. De asemenea, emisia de fluorescență a bis-*N*-acilhidrazonelor la diferite valori ale pH-ului a fost asociată modificărilor conformaționale, investigate prin experimentele de rezonanță magnetică nucleară.

Aplicațiile compușilor sintetizați pot fi extinse în chimia biologică și biochimie, unul dintre compușii sintetizați dovedindu-se un bun colorant al unui organit celular (reticulul endoplasmic), în experimente efectuate pe celule de *S. cerevisiae* și celule mamaliene. De asemenea, majoritatea derivaților obținuți prezintă emisie de fluorescență în stare solidă, în regiunea galben-portocaliu iar pentru doi dintre compuși au fost obținute monocristale care au fost studiate prin difracție de raze X, ceea ce ar putea face posibilă utilizarea acestora în chimia materialelor.

Compușii sintetizați se comportă, așadar, ca molecule sensibile la lumină, capabile să modifice culoarea emisă prin acțiunea luminii și/sau a solventului. Modificările structurale impuse prin grefarea unor substituenți cu proprietăți electronice diferite conduc la compuși cu aplicații diferite.

Capitolul al treilea, intitulat “*Sinteza de noi nitroxizi cu proprietăți duale: luminescență și paramagnetism*”, prezintă sinteza de noi nitroxizi profluorescenți derivați de la 2,5-diaril-1,3,4-oxadiazoli și 1,2,5-oxadiazoli.

Nitroxizii profluorescenți derivați de la 1,3,4-oxadiazoli-2,5-disubstituiți și 4-amino-TEMPO au fost caracterizați structural prin spectrometrie RES, RMN, voltametrie ciclică și difracție de raze X. Spectrele RES ale acestor derivați au confirmat atașarea radicalului la carboxi derivații obținuți, iar prezența radicalului liber conferă nitroxizilor proprietăți electrochimice.

În prezența radicalului liber fluorescența este stinsă, dar poate fi redobândită prin reacția nitroxizilor cu un agent reducător (fenilhidrazină, ascorbat de sodiu), ceea ce face posibilă utilizarea unor astfel de compuși pentru detecția acidului ascorbic.

De asemenea, capitolului al treilea prezintă sinteza unor compuși de tip fluorofor-aza-eter-coroană și, respectiv, fluorofor-aza-eter-coroană-nitroxid derivați de la 1,2,5-oxadiazoli, care au fost caracterizați din punct de vedere structural, al proprietăților fotofizice, dar și al comportamentului în prezența metalelor alcaline. Spectrele de fluorescență înregistrate sugerează o interacțiune slabă între fluorofor și radicalul liber, întrucât fluorescența se păstrează și în prezența centrului paramagnetic, fapt observat și în stare solidă sau prin adăugarea unei soluții de ion metalic. Comportamentul compușilor în prezența ionilor metalici Li^+ , Na^+ , K^+ și Cs^+ a fost studiat prin intermediul spectroscopiei RMN și spectrometriei de masă, care au evidențiat formarea unor complecși supramoleculari, în special cu ionii de potasiu. Astfel de sisteme alcătuite dintr-un fluorofor, un eter coroană și un nitroxid, care nu își pierd în totalitate fluorescența în stare solidă sau la adăugarea unei soluții dintr-un ion metalic, își pot găsi aplicații ca senzori pentru monitorizarea proceselor care au loc în diferite sisteme chimice sau biochimice.

Toți compușii sintetizați au fost caracterizați prin metode fizice și spectrale (spectroscopie RMN, spectroscopie RES, spectrometrie de masă, spectroscopie de absorbție, spectroscopie de

fluorescență, voltametrie ciclică) pentru confirmarea purității, a structurii și a proprietăților fizice. De asemenea, au fost obținute structurile moleculare prin difracție de raze X pentru două dintre bis-*N*-acilhidrazone, și, respectiv pentru unul dintre nitroxizii profluorescenți.

În concluzie, rezultatele obținute în cadrul tezei de doctorat sugerează că emisia de fluorescență diferită este generată de modificările conformaționale sau configuraționale și reprezintă o strategie utilă pentru dezvoltarea de noi sisteme fluorescente de tipul bis-*N*-acilhidrazonelor care pot fi modificate controlat și reversibil. Nitroxizii profluorescenți sunt moleculele hibrid alcătuite dintr-un fluorofor și un radical liber care funcționează bimodal, având abilitatea de a comuta între cele două proprietăți, fluorescență și paramagnetism.

Rezultatele obținute au fost publicate în cinci articole de specialitate cotate ISI, după cum urmează:

1. **A. G. Coman**, C. C. Paraschivescu, A. Paun, A. Diac, N. D. Hadade, L. Jouffret, A. Gautier, M. Matache, P. Ionita, *Synthesis of novel profluorescent nitroxides as dual luminescent-paramagnetic active probes*, *New J. Chem.*, **2017**, 41, 7472. **Factor de impact: 3,069**
2. **A. G. Coman**, A. Paun, C. C. Popescu, N. D. Hădade, C. C. Anghel, A. M. Mădălan, P. Ioniță, M. Matache, *Conformation-induced light emission switching of N-acylhydrazone systems*, *New J. Chem.* **2018**, 42, 14111. **Factor de impact: 3,069**
3. **A. G. Coman**, A. Paun, C. C. Popescu, N. D. Hădade, A. Hanganu, G. Chiritoiu, I. C. Farcasanu, M. Matache, *A novel adaptive fluorescent probe for cell labelling*, *Bioorg. Chem.*, **2019**, 92, 103295. **Factor de impact: 3,926**
4. **A. G. Coman**, C. Stavarache, A. Paun, C. C. Popescu, N. D. Hadade, P. Ionita, M. Matache, *A novel profluorescent paramagnetic diaza-crown ether: synthesis, characterization and alkaline metal-ion complexation*, *RSC Adv.*, **2019**, 9, 6078. **Factor de impact: 3,049**
5. **A. G. Coman**, A. Paun, C. C. Popescu, N. D. Hadade, A. Hanganu, A. M. Mădălan, M. Matache, *Examination of structure-activity relationship of new N-acylhydrazones*, *Rev. Roum. Chim.*, **2020**, 65, 109. **Factor de impact: 0,395**