

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

***MATERIALE ZWITERIONICE CU PROPRIETĂȚI
ANTIMICROBIENE ȘI/SAU PURTĂTORI DE
PRINCIPII BIOLOGIC ACTIVE***

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:
CS II DR: MARCELA MIHAI

Student-doctorand:
TROFIN MARIN-AUREL

2023

CUPRINS

Teză/Rezumat

ABREVIERI ȘI SIMBOLURI

INTRODUCERE.....	1/1
CAPITOLUL 1. POLIMERI ZWITERIONICI. CLASIFICARE, SINTEZĂ ȘI APLICAȚII	5
1.1. POLIAMFOLIȚI. CLASIFICARE, SINTEZĂ ȘI APLICAȚII.....	7
1.1.1. <i>Poliamfoliți naturali</i>	7
1.1.2. <i>Poliamfoliți sintetici</i>	8
1.1.2. <i>Aplicații ale poliamfoliților</i>	15
1.2. POLIBETAINE. SINTEZĂ ȘI APLICAȚII.....	23
1.2.1. <i>Sinteza polibetainelor</i>	24
1.2.2. <i>Aplicații ale polibetainelor</i>	33
1.3. CONCLUZII	49
CAPITOLUL 2. PARTEA EXPERIMENTALĂ.....	51
2.1. MATERIALE UTILIZATE	51
2.1.1. <i>Monomeri</i>	51
2.1.2. <i>Zeina</i>	52
2.1.3. <i>Sisteme de stabilizare</i>	52
2.1.4. <i>Sisteme de inițiere</i>	53
2.1.5. <i>Agenți porogeni și agenți de betainizare</i>	53
2.1.6. <i>Reactivi și solvenți</i>	54
2.1.7. <i>Medicamente</i>	54
2.2. METODE DE SINTEZĂ A MATERIALELOR ZWITERIONICE	55
2.2.1. <i>Sinteza microparticulelor poroase</i>	55
2.2.2. <i>Sinteza de microparticule poroase zwiterionice</i>	56
2.2.3. <i>Sinteza de microparticule poroase zwiterionice hibride</i>	57
2.3. TEHNICI DE CARACTERIZARE.....	58
2.3.1. <i>Caracterizare structurală</i>	58
2.3.2. <i>Caracterizare morfologică</i>	59
2.3.3. <i>Studii de umflare</i>	60
2.3.4. <i>Determinarea capacităților de schimb anionice și cationice</i>	61
2.4. TESTAREA APLICABILITĂȚII MATERIALELOR ZWITERIONICE	63
2.4.1. <i>Studii de adsorbție a principiilor biologice active pe microparticule poroase</i>	63

2.4.2. Studii de eliberare a medicamentelor	64
2.4.3. Testarea activității antimicrobiene	65
CAPITOLUL 3. SINTEZA DE MICROPARTICULE POROASE.....	66/4
3.1. REACȚIA DE POLIMERIZARE ÎN SUSPENSIE.....	67/4
3.2. STABILIREA CONDIȚIILOR OPTIME DE SINTEZĂ	69/4
3.2.1. Factori care țin de faza organică.....	69/5
3.2.2. Factori care țin de faza apoasă	79/6
3.2.3. Regimul de agitare.....	86
3.3. SINTEZA MICROPARTICULELOR POROASE ÎN CONDIȚIILE OPTIME	89/6
3.3.1. Sinteza microparticulelor poroase folosind diferiți agenți porogeni.....	89
3.3.2. Sinteza microparticulelor poroase folosind agenți porogeni solvenți pentru zeină	91
.....	
3.4. CONCLUZII.....	92
CAPITOLUL 4. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA DE MICROPARTICULE ZWITERIONICE	93/7
4.1. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA MICROPARTICULELOR POROASE ZWITERIONICE	93/7
4.1.1. Sinteza microparticulelor poroase zwitterionice	93
4.1.2. Analiza prin spectroscopia FTIR-ATR.....	96/8
4.1.3. Analiza dimensională și SEM-EDAX.....	98
4.1.4. Analiza prin microscopie de forță atomică.....	100
4.1.5. Analiza porozimetrică cu mercur.....	104
4.1.6. Determinarea capacității de schimb ionic	104
4.1.7. Studii de umflare în apă	105/9
4.2. CONCLUZII.....	109
CAPITOLUL 5. MATERIALE ZWITERIONICE HIBRIDE.....	110/10
5.1. SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA MICROPARTICULELOR HIBRIDE CU ZEINĂ	110/10
5.1.1. Sinteza microparticulelor hibride	112/10
5.1.2. Analiza prin spectroscopia FTIR-ATR.....	123/11
5.1.3. Analiza termogravimetrică.....	126
5.1.4. Analiza morfologiei suprafeței prin microscopia SEM.....	128/13
5.1.5. Analiza morfologiei suprafeței prin microscopie de forță atomică	130
5.1.6. Analiza dimensională a microparticulelor hibride și a microparticulelor hibride zwitterionice obținute prin grefare post-polimerizare.....	133
5.1.7. Caracterizarea structurii poroase.....	134/14

5.1.8. Studii de umflare ale microparticulelor hibride	136
5.2. CONCLUZII	137
CAPITOLUL 6. APLICAȚII ALE MICROPARTICULELOR PRECURSOARE, ZWITERIONICE ȘI HIBRIDE ZWITERIONICE	139/15
6.1. SISTEME MICROPARTICULE ZWITERIONICE-DOXICICLINĂ	140/15
6.1.1. Studii de sorbție a DCH de către microparticule poroase și și zwitterionice poroase	140
6.1.2. Cinetica de sorbție	149
6.1.3. Izoterme de sorbție.....	154
6.1.4. Studii termodinamice	159
6.1.5. Studii de eliberare in vitro a DCH.....	161
6.2. SISTEME MICROPARTICULE ZWITERIONICE-TETRACICLINĂ	166
6.2.1. Studii de sorbție a TCH la nivelul microparticulelor precursorare și zwitterionice	167
6.2.2. Studii de eliberare in vitro a TCH.....	170
6.3. SISTEME MICROPARTICULE HIBRIDE ZWITERIONICE-TETRACICLINĂ	172/16
6.3.1. Studii de sorbție a TCH la nivelul microparticulelor hibride și hibride zwitterionice.....	173
6.3.2. Studii de eliberare in vitro a TCH.....	176
6.4. TESTAREA ACTIVITĂȚII ANTIMICROBIENE A MICROPARTICULELOR SINTETIZATE.....	178/17
6.4.1. Activitatea antimicrobiană a microparticulelor zwitterionice.....	179/17
6.4.2. Activitatea antimicrobiană a microparticulelor hibride și hibride zwitterionice	180/17
6.5. CONCLUZII	183
CAPITOLUL 7. CONCLUZII GENERALE	184/19

INTRODUCERE

Polimerii se pot găsi sub o multitudine de forme, de diferite structuri și dimensiuni, de la nanoparticule la membrane sau fibre. Dintre acestea, microparticulele polimerice se remarcă datorită avantajelor precum: dimensiune controlabilă, capacitate de adsorbție și eliberare de medicamente, stabilitate chimică și fizică, posibilitate de sinteză în cantități mari și posibilitate de funcționalizare a suprafeței. În domeniul biomedical, microparticulele sunt folosite pentru transportul și eliberarea controlată a medicamentelor/acizilor nucleici, în imagistică și diagnoză și în inginerie tisulară. Materialele zwitterionice au fost intens studiate în ultimii ani datorită proprietăților precum biocompatibilitate, toxicitate redusă și antiaderență proteică și bacteriană. Aceste materiale și-au găsit numeroase aplicații în domeniul biomedical, cu precădere în dezvoltarea de materiale antimicrobiene și sisteme purtătoare de medicamente. În plus, datorită caracterului biomimetic al acestora, materialele zwitterionice nu declanșează un răspuns imun din partea organismului la contact cu mediul fiziologic.

Acest studiu debutează de la *ipoteza* conform căreia sistemele poroase cu capacitate de încărcare și eliberare de medicamente, obținute prin polimerizare în suspensie, pot dobândi noi proprietăți și funcții dacă sunt supuse unor transformări polimer-analoage potrivite. Astfel, prin introducerea de grupări zwitterionice în structura unor copolimeri, aceștia dobândesc activitatea antimicrobiană intrinsecă, hidrofilie crescută, proprietăți de biocompatibilitate și rezistență la adeziunea proteică și bacteriană. În plus, aceste materiale zwitterionice pot fi folosite în dezvoltarea de materiale hibride (cu zeină) cu scopul îmbunătățirii activității antimicrobiene și capacității de transport de medicamente.

În acest context, obiectivele științifice urmărite în cadrul acestei teze de doctorat sunt:

1. **Sinteza de microparticule poroase prin metoda polimerizării în suspensie**, folosind monomerii N-vinilimidazol, glicidil metacrilat, patru agenți de reticulare, și diferiți agenți porogeni;
2. **Investigarea influenței unor parametri de sinteză asupra structurii, randamentului de sinteză și proprietăților microparticulelor obținute**, cu stabilirea treptată a condițiilor optime de sinteză;

3. **Sinteza materialelor zwiterionice prin betainizarea microparticulelor poroase** folosind diverși agenți de betainizare (cloroacetat de sodiu, acid acrilic, acid metacrilic, 1,3-propansultonă);
4. **Prepararea materialelor zwiterionice hibride** (prin grefarea zeinei în timpul/după polimerizarea în suspensie);
5. **Caracterizarea materialelor obținute** prin spectrometrie în infraroșu, porozimetrie cu mercur, sorbție dinamică de vapori de apă, analiză termogravimetrică, microscopie electronică de baleiaj, microscopie de forță atomică, studii de umflare în apă și altele;
6. **Realizarea studiilor de sorbție/eliberare de medicamente** (în condiții gastrointestinale simulate) de către microparticulele zwiterionice și zwiterionice hibride folosind ca medicamente model clorhidratul de tetraciclină și clorhidratul de doxiciclină;
7. **Studiul activității antibacteriene intrinseci** a materialelor zwiterionice și zwiterionice hibride împotriva unor tulpini de bacterii (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*).

Teza de doctorat intitulată „Materiale zwiterionice cu proprietăți antimicrobiene și/sau purtători de principii biologice active” este compusă din două părți:

Partea I-a, intitulată *Stadiul actual al cunoașterii*, cuprinde **Capitolul 1** și reprezintă un studiu amănunțit de literatură care cumulează informații generale despre polimerii zwiterionici, clasificarea acestora (poliamfoliți și polibetaine), principalele metode de sinteză (polimerizare directă sau transformări polimer-analoage) și exemple de aplicații din domeniul biomedical, cu precădere ca materiale antimicrobiene sau sisteme de transport de medicamente. De asemenea, acest capitol cuprinde o prezentare concisă a zeinei, proteină cu caracter de poliamfolit, care va fi ulterior folosită în realizarea de materiale hibride.

Partea a II-a, este structurată în cinci capitole distincte și sumarizează rezultatele proprii obținute în cadrul studiilor de doctorat. Rezultatele expun traseul experimental al probelor pornind de la sinteză, funcționalizare, caracterizare și până la investigarea proprietăților antibacteriene și a capacității de sorbție și eliberare de medicamente. **Capitolul 2** prezintă informații cu privire la materialele și metodele de sinteză, transformare și caracterizare utilizate în cadrul acestui studiu.

Capitolul 3 descrie obținerea de microparticule poroase pe bază de N-vinilimidazol și glicidil metacrilat, reticulate cu mono-/di-/trietilenglicol dimetacrilat sau divinilbenzen,

nestudiate până în prezent în literatura de specialitate. Este urmărită influența unor factori (care țin atât de faza organică cât și de cea apoasă) asupra randamentului de sinteză și suprafeței specifice a microparticulelor. Folosind parametrii dovediți a fi optimi au fost sintetizate microparticule utilizând diverși agenți porogeni.

Capitolul 4 prezintă procesul de betainizare și caracterizare al microparticulelor poroase (prezentate în Capitolul 3). În cazul microparticulelor zwitterionice, s-a determinat gradul de betainizare al acestora și de asemenea a fost analizată influența acestei transformări asupra morfologiei și structurii poroase a microparticulelor. Modificările structurale induse de introducerea grupărilor zwitterionice au fost puse în evidență, printre altele, și prin analiza elementală semi-cantitativă.

În cadrul **Capitolului 5** s-au sintetizat microparticulele zwitterionice hibride (cu zeină) prin două metode (grefare în timpul/după procesul de polimerizare în suspensie) prin reacția de deschidere de ciclu dintre ciclul epoxidic din structura glicidil metacrilatului și grupările aminice libere din structura proteinei. Aceste materiale au fost ulterior supuse procesului de betainizare folosind trei agenți de betainizare diferiți.

Capitolul 6 cuprinde, în prima parte, studii privind capacitatea de sorbție și eliberare a clorhidratului de doxiciclină și a clorhidratului de tetraciclină de către microparticulele zwitterionice sau zwitterionice hibride. Studiile au continuat cu evaluarea activității antimicrobiene a microparticulelor (zwitterionice și zwitterionice hibride) împotriva unor tulpini bacteriene Gram-pozitive și Gram-negative.

În **Capitolul 7** sunt prezentate concluziile generale ale studiilor incluse în prezenta teză de doctorat. De asemenea, fiecare capitol se încheie cu o secțiune de concluzii proprii. La finalul lucrării se găsește lista cu **bibliografia** consultată și citată. **Anexa 1** cuprinde activitatea de diseminare a rezultatelor obținute pe parcursul stagiului de doctorat, iar **Anexa 2** este alcătuită din lucrările științifice publicate în această perioadă.

CAPITOLUL 3

SINTEZA DE MICROPARTICULE POROASE

Acest capitol cuprinde sinteza microparticulelor poroase folosind metoda polimerizării în suspensie, inclusiv studiile de optimizare destinate obținerii acestora cu randament și suprafață specifică cât mai mari.

3.1. Reacția de polimerizare în suspensie

Pentru sinteza microparticulelor poroase s-au folosit monomerii glicidil metacrilat (GMA), N-vinylimidazol (NVI) și unul dintre agenții de reticulare: monoetilenglicol dimetacrilat (EGDMA), dietilenglicol dimetacrilat (DEGDMA), trietilenglicol dimetacrilat (TEGDMA) sau divinilbenzen (DVB). Procesul de polimerizare urmează un mecanism radicalic, iar reacția generală în funcție de reticulantul folosit, se regăsește în Figura 3.1a (reticulant dimetacrilic), respectiv 3.1b (reticulant divinilbenzen).

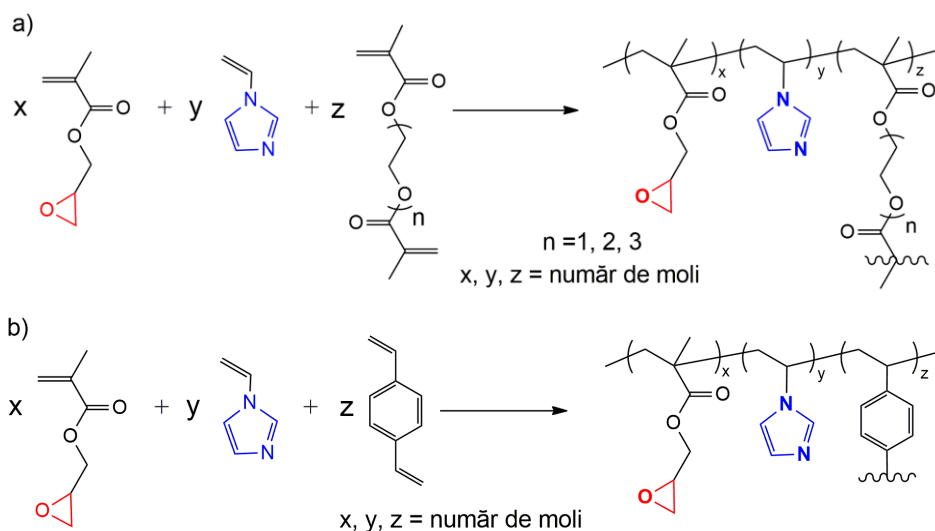


Figura 3.1. Reacția de copolimerizare a GMA și NVI folosind un agent de reticulare a) dimetacrilic sau b) divinilic (Trofin et al., 2022; Trofin et al., 2023).

3.2. Stabilirea condițiilor optime de sinteză

Structura și morfologia microparticulelor, dar și randamentul de obținere al acestora sunt influențate de o serie de factori care pot ține de faza organică, de faza apoasă sau de condițiile de agitare. În acest sens, s-a studiat influența unor parametri asupra reacției de polimerizare, cu scopul identificării celor mai potrivite condiții.

3.2.1. Factori care țin de faza organică

- *Procentul molar de NVI*: s-au sintetizat patru tipuri de microparticule folosind diferite procente molare de NVI: 60%, 45%, 30%, 20%. În cadrul acestor sinteze, parametrii păstrați constanți au fost: reticulantul EGDMA într-un procent molar de 10%, agentul de stabilizare PAV, GEL și MgCl₂, agentul porogen = toluen, diluția D = 0,5 și viteza de agitare = 300 rpm. Imagini SEM ale microparticulelor obținute se regăsesc în Figura 3.3.

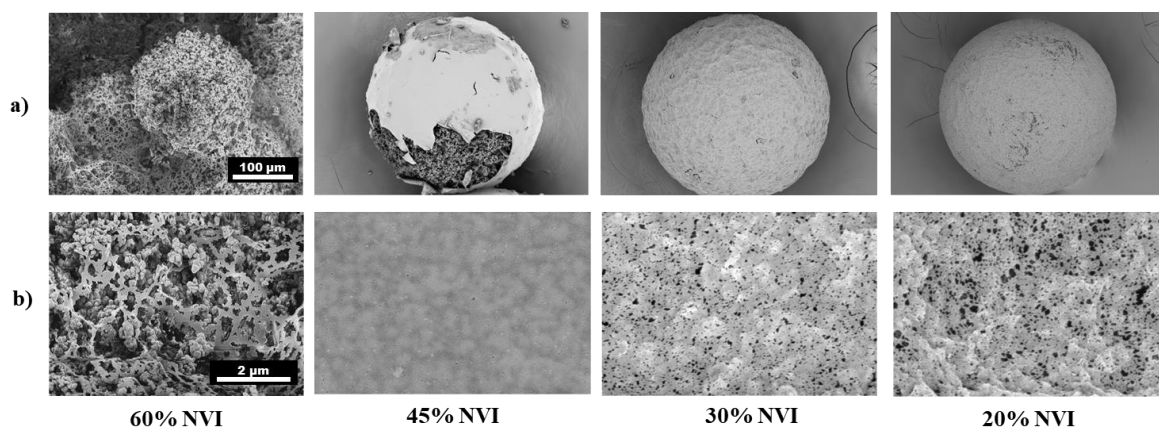


Figura 3.3. Influența procentului molar de NVI asupra morfologiei microparticulelor poroase a) aspectul general; b) aspectul suprafeței microparticulelor, în cazul folosirii reticulantului EGDMA într-un procent molar de 10% (Trofin et al., 2023).

S-a ales pentru studiile ulterioare procentul molar al NVI care a furnizat microparticulele cu suprafața specifică cea mai mare, respectiv 30% NVI (Trofin et al., 2023).

- *Structura chimică a agentului de reticulare și gradul de reticulare*: au fost sintetizate microparticule folosind cei patru agenți de reticulare în procent molar de 10%. Cu excepția DEGDMA, agenții de reticulare aleși duc la formarea de microparticule sferice, iar pe baza valorilor suprafeței specifice, s-a concluzionat că TEGDMA este agentul de reticulare optim ($15 \text{ m}^2/\text{g}$), comparativ cu EGDMA ($10 \text{ m}^2/\text{g}$) sau DVB ($8 \text{ m}^2/\text{g}$). De asemenea, randamentul și suprafața specifică cresc odată cu gradul de reticulare. Studiile de optimizare privind monomerii utilizați și raportul dintre aceștia concluzionează că raportul molar GMA:NVI:TEGDMA = 40:30:30 este optim pentru obținerea de microparticule cu o suprafață specifică cât mai mare (Trofin et al., 2023).
- *Diluția*: reprezintă raportul dintre volumul agentului porogen și volumul fazei organice (Costa et al., 2020). Analizând valorile suprafeței specifice, randamentului și conținutului în azot și grupe epoxi al microparticulelor, s-a decis că diluția optimă are valoarea 0,5 (Trofin et al., 2023).

3.2.2. Factori care țin de faza apoasă

- *Compoziția sistemului de stabilizare:* s-au realizat sinteze folosind cinci sisteme de stabilizare diferite, faza organică și condițiile de agitare fiind păstrate constante. Agentul principal de stabilizare, poli(alcoolul vinilic) (PAV), a fost folosit ca atare sau în diferite combinații cu gelatină (GEL) și săruri anorganice. În Tabelul 3.5 sunt prezentate sistemele de stabilizare utilizate și proprietățile structurii poroase a microparticulelor rezultate.

Tabelul 3.5. Influența compoziției sistemului de stabilizare asupra proprietăților microparticulelor (Trofin et al., 2023).

RMM	Componente sistem de stabilizare	S _{sp} (Hg) (m ² /g)	VP (mL/g)	P (%)	d _m (nm)
GMA:NVI: TEGDMA = 40:30:30	PAV	9,14	1,129	62,05	494
	PAV, GEL	33,91	0,962	71,86	113
	PAV, GEL, NaCl	38,46	1,190	50,73	124
	PAV, GEL, MgCl ₂	48,32	1,314	45,75	109
	PAV, GEL, CaCl ₂	34,83	0,953	46,51	110

RMM = raportul molar dintre monomeri, S_{sp} (Hg) = suprafața specifică determinată prin tehnica porozimetrică cu mercur, VP = volumul porilor, P = porozitatea, d_m = diametrul mediu al porilor.

Microparticulele care prezintă suprafața specifică cea mai mare și cel mai bun randament de obținere (91%), sunt cele sintetizate folosind sistemul de stabilizare format din PAV, GEL și clorură de magneziu.

- *Masa molară și gradul de hidroliză al PAV:* sortul de PAV optim pentru sinteza microparticulelor poroase este cel cu M_w = 52650 g/mol și grad de hidroliză de 98%.

3.3. Sinteza microparticulelor poroase

Folosind condițiile studiului de optimizare, au fost sintetizate microparticule folosind trei agenți porogeni diferiți, codurile fiind codificate în funcție de agentul folosit: (GNT)_T (toluen), (GNT)_A (acetat de n-butil) și (GNT)_{TA} (amestec toluen: acetat de n-butil (1:1, v/v)). Suprafețele specifice și randamentele de obținere ale acestor microparticule au fost: 91% și 48,32 m²/g pentru (GNT)_T, 90% și 51,7 m²/g pentru (GNT)_{TA}, 93% și 61,7 m²/g pentru (GNT)_A. Cu scop comparativ, au fost sintetizate microparticule folosind ca agenți porogeni solvenți ai zeinei, dimetilsulfoxid (proba (GNT)_{DMSO}), respectiv dimetilformamida (proba (GNT)_{DMF}).

CAPITOLUL 4

SINTEZA ȘI CARACTERIZAREA DE MICROPARTICULE ZWITERIONICE

4.1. Sinteza și caracterizarea microparticulelor poroase zwiterionice

În acest capitol este prezentată sinteza și caracterizarea microparticulelor zwiterionice obținute prin betainizarea microparticulelor poroase sintetizate anterior. În acest scop, atomul de azot iminic din structura unităților repetitive de NVI a fost transformat prin reacții de substituție sau adiție, în cationul de amoniu tetra-substituit corespunzător, reprezentând partea cationică a grupării betainice. În funcție de agentul de betainizare utilizat, gruparea anionică este reprezentată de gruparea carboxilat (cloroacetat de sodiu, acid acrilic, acid metacrilic) sau sulfonat (1,3-propansulfona) (Figura 4.1).

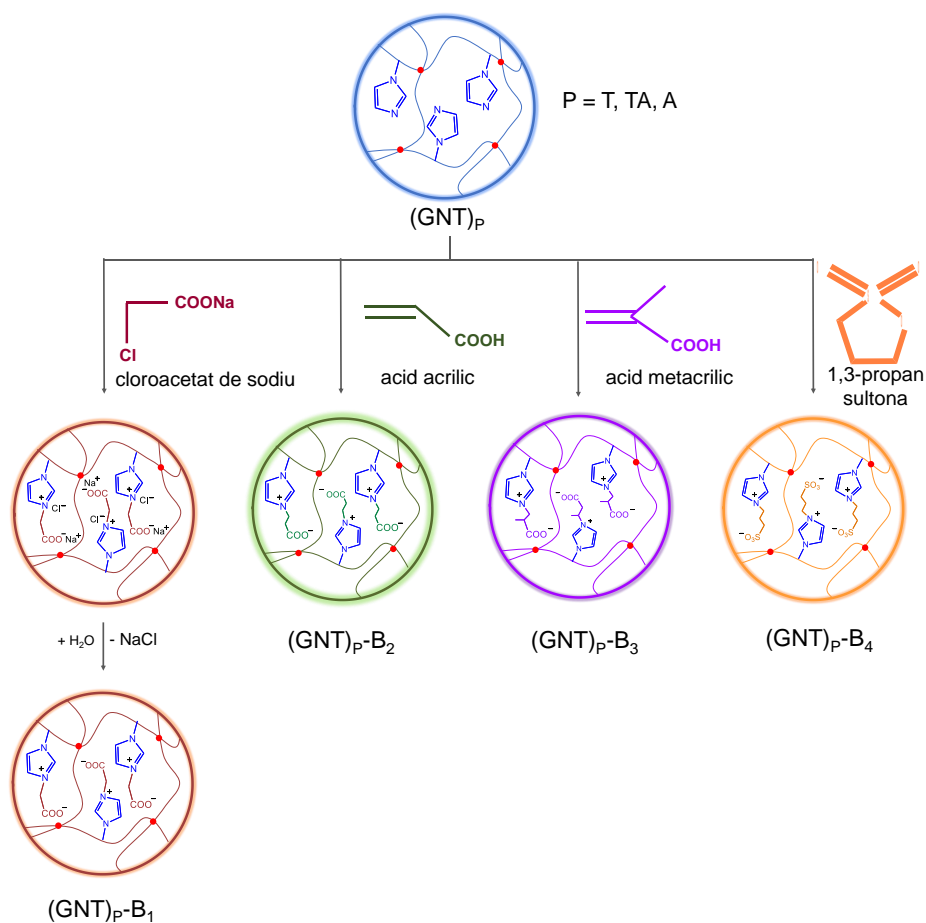


Figura 4.1. Reprezentarea schematică a structurii microparticulelor poroase înainte și după transformarea cu diferiți agenți de betainizare.

Au fost supuse procesului de transformare polimer-analoagă microparticulele poroase sintetizate în condiții optime (așa cum s-a demonstrat în Capitolul 3), obținute în prezența a trei agenți porogeni diferiți: $(GNT)_T$, $(GNT)_{TA}$, $(GNT)_A$.

4.1.2. Analiza prin spectroscopia FTIR-ATR

Spectrele de adsorbție FTIR-ATR ale microparticulelor înainte și după betainizare au un grad ridicat de similitudine, confirmând că agenții de betainizare nu modifică semnificativ structura copolimerului ci doar reacționează cu ciclurile imidazolice. Spectrele microparticulelor zwitterionice prezintă benzile caracteristice pentru grupările carboxilat, respectiv sulfonat. Gradele de betainizare au fost determinate prin raportarea intensităților vibrațiilor corespunzătoare atomului de azot cuaternar (1560 cm^{-1}) și neutru (1553 cm^{-1}) (Tabelul 4.1).

Tabelul 4.1. Gradele de betainizare obținute din analiza FTIR, pentru microparticulele zwitterionice pe bază de $(GNT)_T$, $(GNT)_{TA}$ și $(GNT)_A$.

Proba supusă betainizării	Gradul de betainizare			
	cloroacetat de sodiu	acid acrilic	acid metacrilic	1,3-propansultona
$(GNT)_T$	63,83	62,08	55,61	55,91
$(GNT)_{TA}$	76,21	70,33	67,33	58,48
$(GNT)_A$	90,2	84,24	80,98	60,49

Micrografiile SEM sugerează că procesul de betainizare nu modifică forma sferică și morfologia poroasă a microparticulelor. Rapoartele atomice C/N și O/N, determinate cu ajutorul analizei EDAX, cresc în urma transformării datorită grupării nou introduse formată dintr-un lanț hidrocarbonat scurt și o grupare carboxilat, ceea ce produce creșterea conținutului în carbon și oxigen. Rezultatele provenite din analiza EDAX sunt foarte apropiate de cele teoretice, fiind în concordanță cu valorile gradelor de betainizare prezentate în Tabelul 4.1. Analiza structurii poroase s-a realizat prin microscopie de forță atomică și porozimetrie cu mercur, rezultând faptul că proba $(GNT)_A-B_1$ prezintă valorile cele mai mari pentru suprafața specifică ($48,59\text{ m}^2/\text{g}$) și rugozitatea medie (100,8 nm).

Capacitățile de schimb ionic (Tabelul 4.4) furnizează informații cu privire la densitatea de grupe cationice și anionice din structura zwitterionică. Valorile apropiate dintre capacitățile de schimb anionice și cele cationice sugerează un raport echimolecular între grupările acide și cele bazice confirmând astfel structurile chimice ale microparticulelor zwitterionice prezentate în Figura 4.1.

Tabelul 4.4. Capacitățile de schimb ionic (gravimetrice și volumetrice) pentru microparticulele zwitterionice pe bază de (GNT)_A.

Proba	Capacitate de schimb anionică		Capacitate de schimb cationică	
	CSA _g	CSA _v	CSC _g	CSC _v
(GNT) _A -B ₁	2,70	1,49	2,61	1,41
(GNT) _A -B ₂	2,53	1,28	2,40	1,15
(GNT) _A -B ₃	2,39	1,06	2,29	0,95

CSA_g = capacitatea de schimb anionică gravimetrică, CSA_v = capacitatea de schimb anionică volumetrică, CSC_g = capacitatea de schimb cationică gravimetrică, CSC_v = capacitatea de schimb cationică volumetrică.

4.1.7. Studii de umflare în apă

Comportarea la umflare a microparticulelor zwitterionice poate fi influențată de variația pH-ului mediului în care se realizează umflarea. Este cunoscut faptul că poli(carboxibetainele) sunt sensibile la modificarea valorilor pH-ului (Racovita et al., 2021). Rapoartele de umflare în medii cu valori ale pH-ului cuprinse în intervalul 2-9 sunt prezentate în [Figura 4.8](#). Rapoartele de umflare mari la pH scăzut sunt datorate respingerilor electrostatice care apar între grupările cationice vecine. Odată cu creșterea valorilor pH-ului mediului de umflare gupele carboxilice se deprotonează treptat, iar microparticulele revin de la forma cationică la cea zwitterionică, cu scăderea gradului de umflare la echilibru. valorile exponentului difuzional n din ecuația Korsmeyer-Peppas sunt cuprinse în intervalul 0,205-0,222 indicând faptul că mecanismul de transport al moleculelor de apă este de tip Fick fiind controlat în principal de fenomenul de difuzie a apei prin porii matricei polimere ([Figura 4.11](#)).

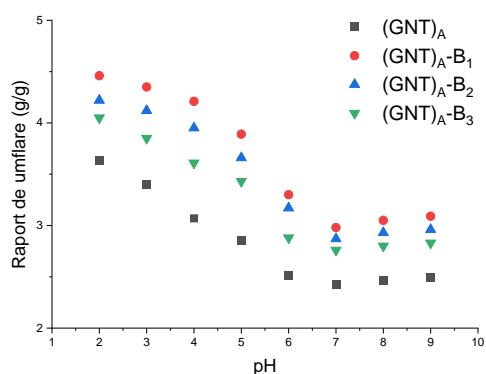


Figura 4.8. Rapoartele de umflare la echilibru a microparticulelor (GNT)_A și a celor zwitterionice în soluții apoase cu valori diferite de pH.

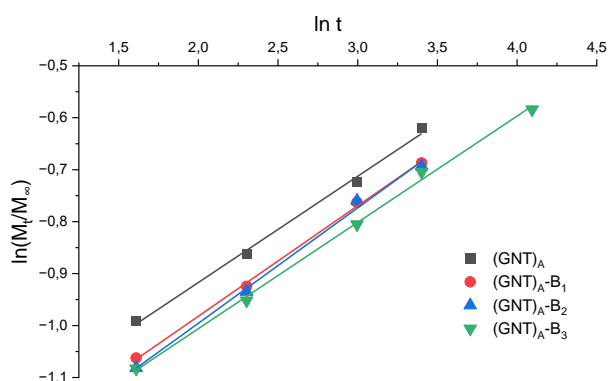


Figura 4.11. Reprezentarea grafică a $\ln(Mt/M_{\infty})$ funcție de $\ln t$ pentru microparticulele (GNT)_A înainte și după betainizare.

CAPITOLUL 5

MATERIALE ZWITERIONICE HIBRIDE

Acest capitol prezintă sinteza microparticulelor hibride cu zeină, prin grefarea zeinei la nivelul microparticulelor poroase sintetizate anterior (Capitolul 3) sau prin grefarea zeinei în timpul polimerizării în suspensie. Ulterior, aceste microparticule au fost supuse procesului de betainizare cu trei agenți diferiți și caracterizate din punct de vedere structural și morfologic.

5.1.1.1. Grefarea zeinei în timpul polimerizării în suspensie

Microparticulele poroase care conțin zeină pot fi obținute prin desfășurarea concomitentă a reacției de grefare și a celei de polimerizare, atunci când se formează o nouă legătură covalentă carbon-azot prin reacția de deschidere a ciclului epoxidic în prezența grupării aminice libere care aparține zeinei (provenită de la glutamină) (Figura 5.2).

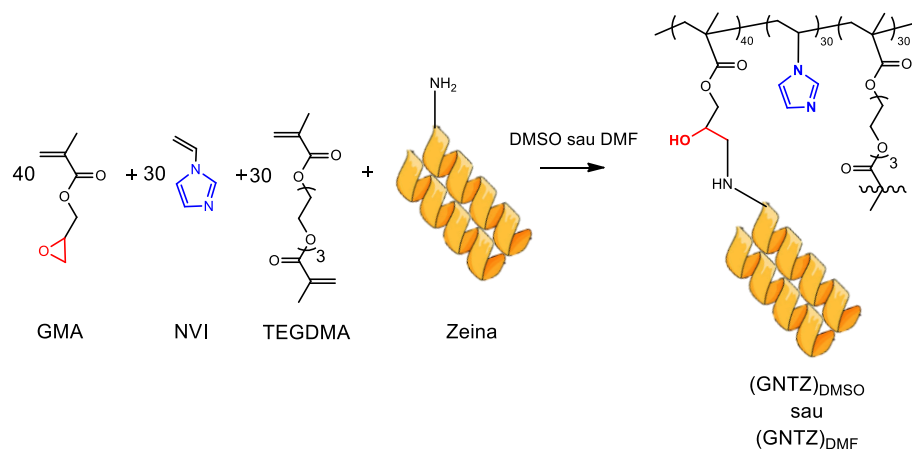


Figura 5.2. Sinteza microparticulelor hibride cu zeină prin polimerizare în suspensie.

Microparticulele obținute au o structură poroasă, pe suprafața căroră se identifică numeroși pori și asperități. Randamentele reacțiilor de obținere a microparticulelor poroase hibride au fost de 61,70% (proba (GNTZ)_{DMSO}) și respectiv 50,96 % (proba (GNTZ)_{DMF}). Având în vedere valoarea randamentului de reacție în studiile ce vor urma se vor lua în considerare numai microparticulele (GNTZ)_{DMSO}.

5.1.1.2. Grefarea zeinei post-polimerizare

Pentru acest procedeu s-au folosit microparticulele realizate folosind agenți porogeni diferiți și a căror sinteză a fost prezentată în Capitolul 3: (GNT)_T, (GNT)_{TA}, (GNT)_A. Reacția de grefare a zeinei pe microparticulele poroase, în pH bazic, este prezentată în Figura 5.4:

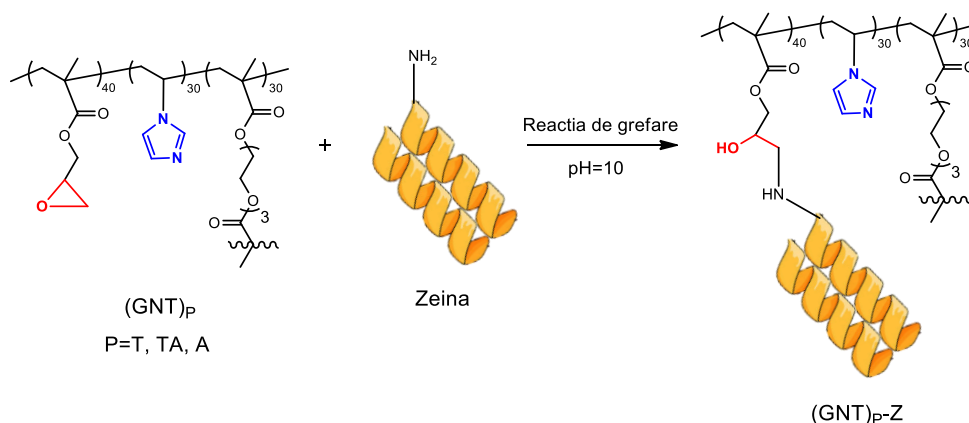


Figura 5.4. Reacția de grefare a zeinei pe suprafața microparticulelor poroase.

Cantitatea cea mai mare de zeină s-a grefat pe microparticulele poroase $(GNT)_T-Z$. Acest lucru poate fi explicat prin faptul că microparticulele $(GNT)_T$ au valori mai mari ale diametrului porilor ($d_m = 109$ nm) comparativ cu cele ale microparticulelor $(GNT)_{TA}$ ($d_m = 97$ nm) și $(GNT)_A$ ($d_m = 94$ nm), facilitând astfel accesul zeinei la grupele epoxidice din structura microparticulelor reticulate. În cadrul unui studiu de optimizare s-au stabilit condițiile optime de grefare a zeinei pe microparticulele poroase $(GNT)_T$: solvent pentru zeină – metanol 80%, concentrația soluției de zeină – 3% (m/v), raportul masic microparticule : zeină = 1:1(g/g), temperatura – 60°C, timpul de reacție – 5 ore și pH – 10. Microparticulele obținute în aceste condiții au fost notate $(GNT)_T-Z$.

5.1.1.3. Reacția de betainizare a microparticulelor poroase hibride

Microparticulele hibride obținute atât prin polimerizare în suspensie, cât și cele obținute prin grefarea zeinei pe microparticulele $(GNT)_T$ au fost supuse betainizării cu cei trei agenți de betainizare diferiți: cloroacetat de sodiu, acidul acrilic și acidul metacrilic. Introducerea de grupări zwiterionice în structura microparticulelor hibride aduce după sine o serie de avantaje: hidrofilie crescută, proprietăți variabile în funcție de pH și o posibilă activitate antimicrobiană.

5.1.2. Analiza prin spectroscopia FTIR-ATR

Analizând spectrul de absorbție FTIR-ATR al probei $(GNTZ)_{DMSO}$, obținută prin polimerizare în suspensie în prezența zeinei, se pot remarca benzile specifice zeinei: amida I (1654 cm^{-1}), amidă II (1538 cm^{-1}), amida A (3302 cm^{-1}), $\nu(\text{NH})$ (3300 cm^{-1}). Grefarea zeinei la gruparea epoxidică în timpul procesului de polimerizare în suspensie nu afectează structura terțiară a proteinei, în reacție fiind implicate cel mai probabil structurile flexibile dintre α -

helix-uri. În urma procesului de betainizare, se remarcă o scădere a semnalelor specifice zeinei și o ușoară creștere în intensitate a benzii $\nu_{\text{asim}}(\text{C}=\text{O})$ de la 1722 cm^{-1} , probabil datorită unor modificări de conformație.

Analiza FTIR-ATR a microparticulelor hibride obținute prin grefarea zeinei pe microparticule poroase $(\text{GNT})_{\text{T}}$, înainte și după betainizare, scoate în evidență o serie de aspecte: semnalele specifice zeinei din spectrul probei $(\text{GNT})_{\text{T-Z}}$ sunt mai slabe comparativ cu omologul său sintetizat prin adăugarea zeinei încă din faza polimerizării în suspensie, în cazul betainizării se observă că banda de la 1655 cm^{-1} devine mai largă datorită dezvoltării sub-benzii $\nu_{\text{asim}}(\text{COO}^-)$, creșterea absorbției în zona $1530\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$ și apariția unei benzi noi la 835 cm^{-1} , legate de vibrații ale cationului imidazoliu.

Pe baza rezultatelor de spectroscopie FTIR-ATR au fost calculate gradele de betainizare, reprezentând procentul de nuclee imidazolice care au participat cu succes la reacția de betainizare (Figura 5.11).

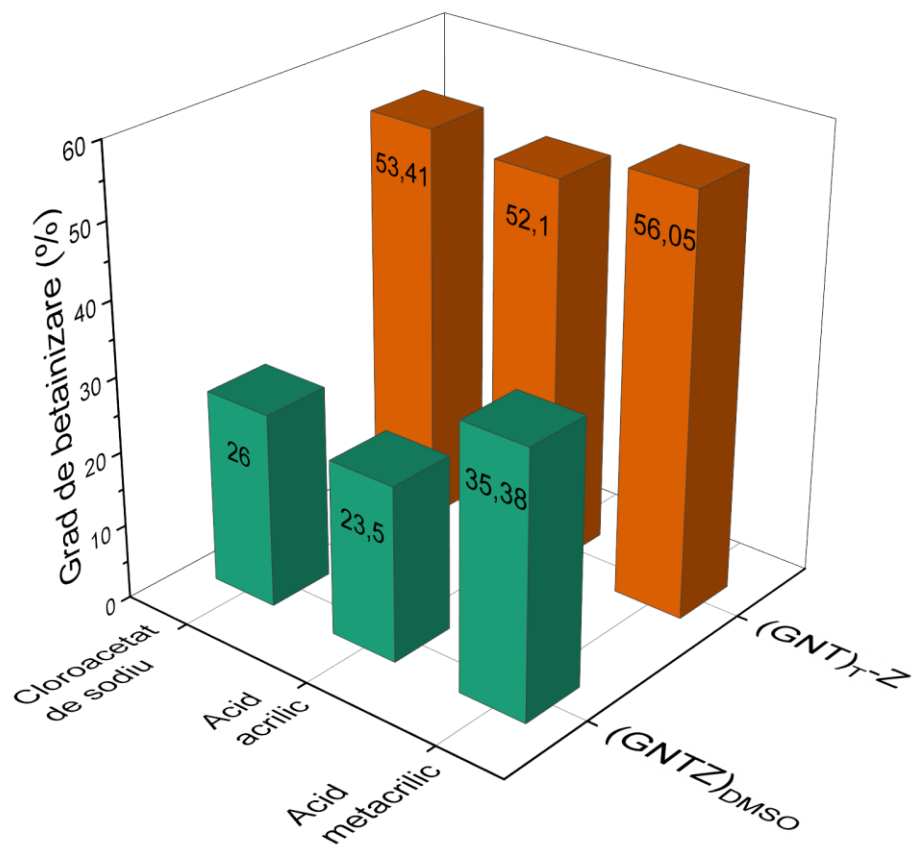


Figura 5.11. Gradele de betainizare ale microparticulelor hibride zwitterionice pe bază de $(\text{GNTZ})_{\text{DMSO}}$ și $(\text{GNT})_{\text{T-Z}}$.

5.1.4. Analiza morfologiei suprafeței prin microscopia SEM

Microparticulele obținute au fost analizate cu ajutorul tehnicii de microscopie electronică de baleiaj (Figura 5.13 și Figura 5.14).

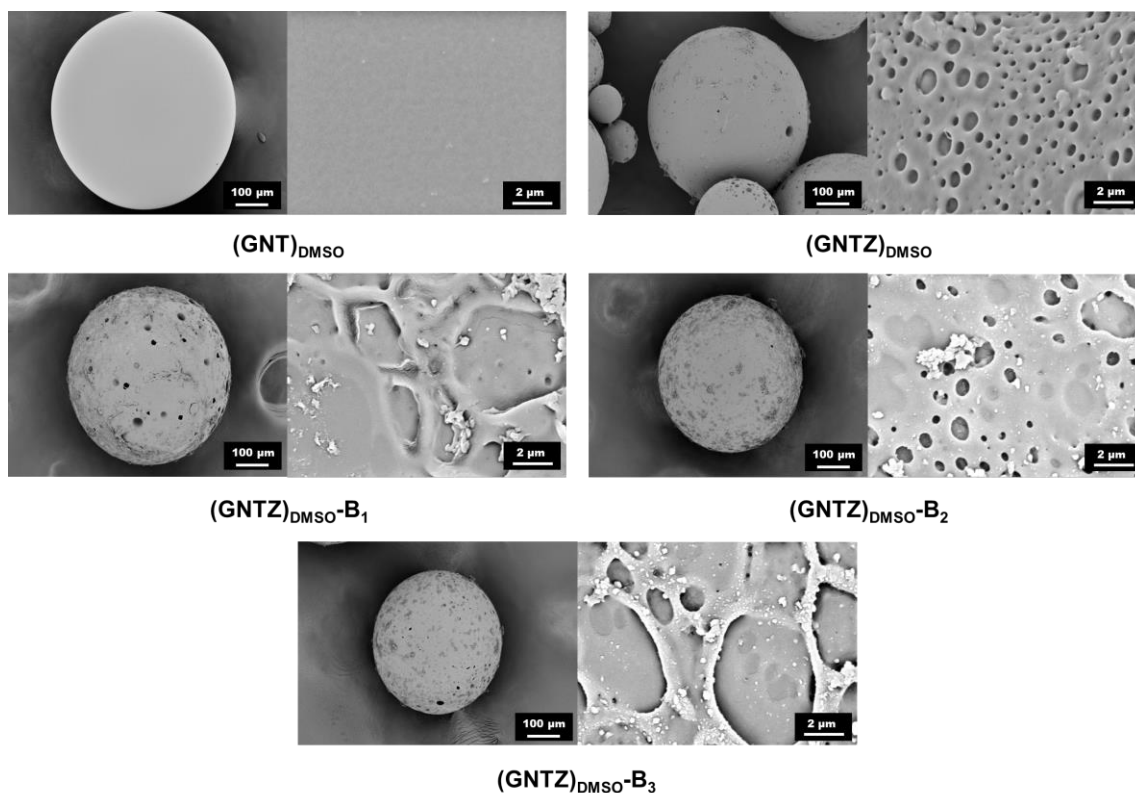


Figura 5.13. Imagini SEM ale microparticulelor hibride zwitterionice sintetizate prin grefarea zeinei în timpul polimerizării.

După cum se poate observa în Figura 5.13, în cazul microparticulelor $(GNT)_{DMSO}$, solventul zeinei nu a acționat ca un agent porogen, aspectul suprafeței microparticulelor fiind neted și uniform. Pe de altă parte, microparticulele $(GNTZ)_{DMSO}$, sintetizate în prezența zeinei, prezintă numeroși pori de diferite dimensiuni. Procesul de betainizare aduce modificări în ceea ce privește aspectul suprafeței microparticulelor, dar nu afectează forma acestora.

Grefarea zeinei pe suprafața microparticulelor $(GNT)_T$ conduce la modificarea morfologiei suprafeței prin acoperirea porilor existenți, cu formarea unui înveliș dens ce provoacă reducerea numărului și dimensiunii porilor (Figura 5.14). Procesul ulterior de betainizare nu are un impact semnificativ asupra texturii suprafeței acestor microparticule, structura poroasă păstrându-se indiferent de agentul de betainizare folosit.

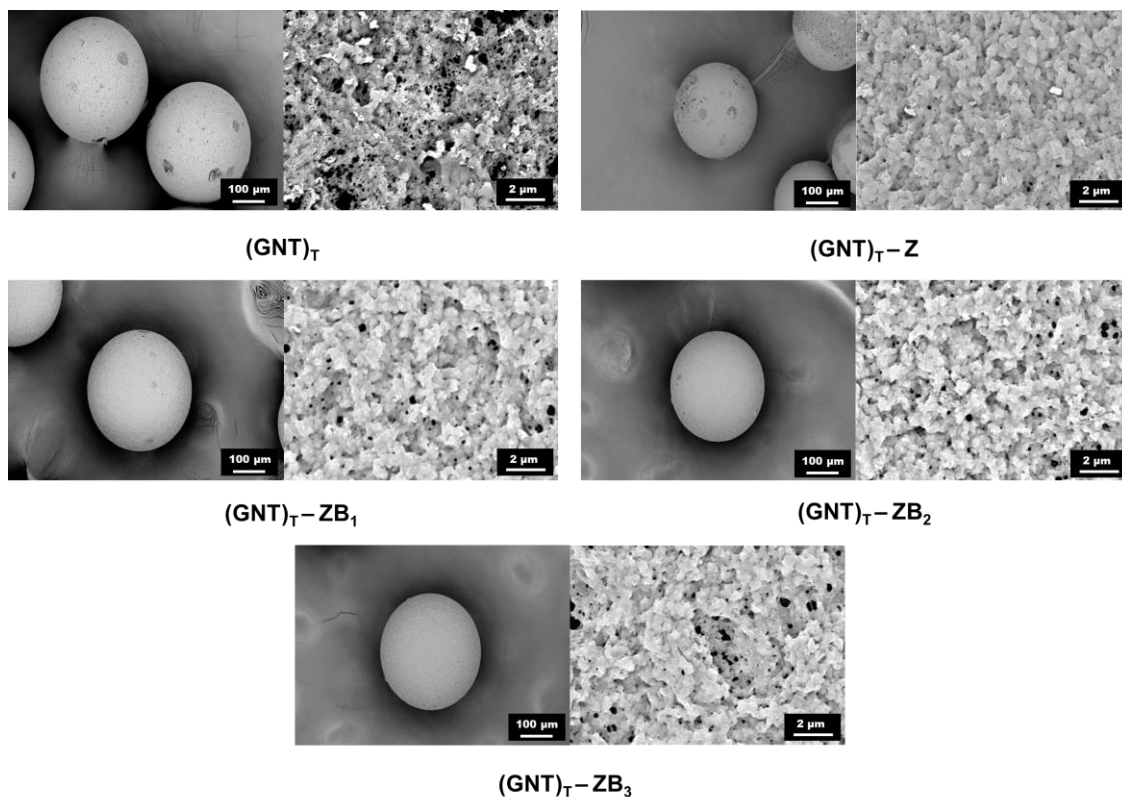


Figura 5.14. Imagini SEM ale microparticulelor sintetizate prin grefarea post-polimerizare a zeinei, înainte și după grefare/betainizare.

5.1.7. Caracterizarea structurii poroase

Procesul de grefare a zeinei, atât în timpul polimerizării în suspensie cât și pe microparticulele deja formate conduce la obținerea de valori relativ apropiate ale suprafețelor specifice și a dimensiunii porilor. Betainizarea microparticulelor hibride provoacă scăderea suprafeței specifice indiferent de tipul acestora. Acest comportament este mai accentuat în cazul folosirii acizilor acrilic sau metacrilic pe post de agenți de betainizare, care cel mai probabil provoacă o rearanjare conformațională a lanțurilor macromoleculare.

5.1.8. Studii de umflare ale microparticulelor hibride

Gradele de umflare depind în primul rând de metoda de grefare a zeinei. Atunci când grefarea zeinei se face direct din reacția de polimerizare în suspensie, microparticulele sunt mai hidrofobe ($S_w = 116-132\%$) comparativ cu cele obținute prin grefare post-polimerizare ($S_w = 223-261\%$). După betainizare gradul de umflare în apă crește ușor, probabil datorită prezenței grupărilor carboxilat din structura microparticulelor hibride zwitterionice, fiind totuși influențat de gradul de betainizare și de tipul de agent de betainizare utilizat. Toate aceste constatări conduc la concluzia că reacțiile de grefare și cele de betainizare au avut loc.

CAPITOLUL 6

APLICAȚII ALE MICROPARTICULELOR PRECURSOARE, ZWITERIONICE ȘI HIBRIDE ZWITERIONICE

Acest capitol prezintă rezultatele obținute în cadrul studiilor de evaluare a capacității de încărcare și eliberare de medicamente a microparticulelor zwitterionice și zwitterionice hibride, dar și activitatea antibacteriană a acestora.

6.1. Sisteme microparticule zwitterionice-doxiciclină

Clorhidratul de doxiciclină (DCH) a fost folosit pentru studii de sorbție pe microparticulele $(GNT)_A$, $(GNT)_{A-B_1}$, $(GNT)_{A-B_2}$ și $(GNT)_{A-B_3}$. Condițiile optime pentru desfășurarea procesului de sorbție sunt: pH 8,5, timp de contact 300 de minute, concentrația soluției de medicament $1 \cdot 10^{-3}$ g/ml și temperatura de 308 K. Microparticulelor zwitterionice realizează o sorbție mai pronunțată a medicamentului, fapt ce poate fi corelat cu gradul de umflare mai mare al acestora (gradul de umflare variază în ordinea: $(GNT)_{A-B_1} > (GNT)_{A-B_2} > (GNT)_{A-B_3} > (GNT)_A$). De asemenea, studiile cinetice sugerează că procesul de încărcare are loc în două etape: difuzie prin macropori urmată de difuzie prin mezopori. Studiile termodinamice sugerează faptul că sorbția DCH decurge spontan și endoterm, iar interacțiunea dintre medicament și matricea polimeră este de natură fizico-chimică.

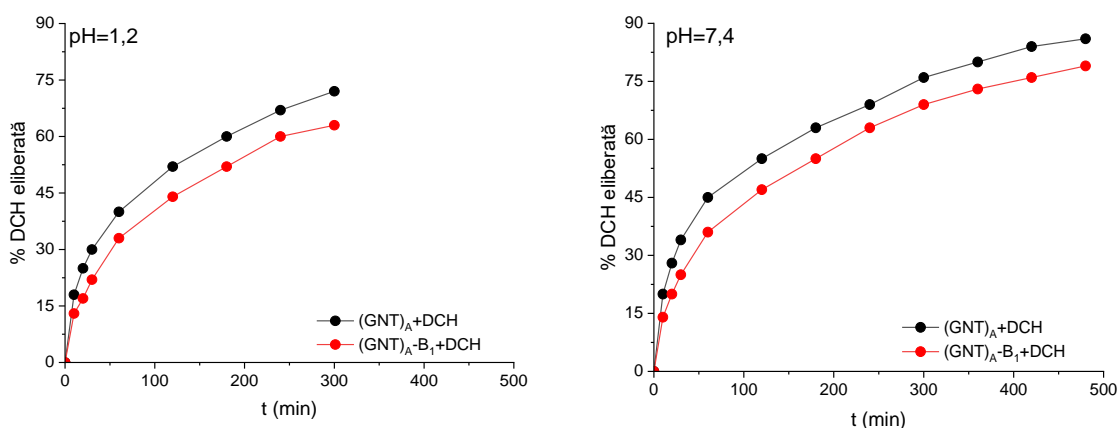


Figura 6.12. Profilul de eliberare al DCH din microparticulele $(GNT)_A$ și $(GNT)_{A-B_1}$ la $pH = 1,2$ și $pH = 7,4$ exprimat procentual.

Eliberarea DCH (Figura 6.12) a fost studiată cu ajutorul a patru modele matematice (Higuchi, 1967; Kopcha et al., 2011; Korsmeyer et al., 1983; Talevi & Ruiz, 2021),

concluzionându-se că eliberarea este mai lentă în cazul microparticulelor zwiterionice, iar mecanismul de eliberare este dictat în principal de fenomene de difuzie.

6.3. Sisteme microparticule hibride zwiterionice-tetraciclină

Capacitatea microparticulelor hibride și hibride zwiterionice de sorbție a clorhidratului de tetraciclină (TCH) fost evaluată folosind diferite concentrații inițiale ale medicamentului (Figura 6.21).

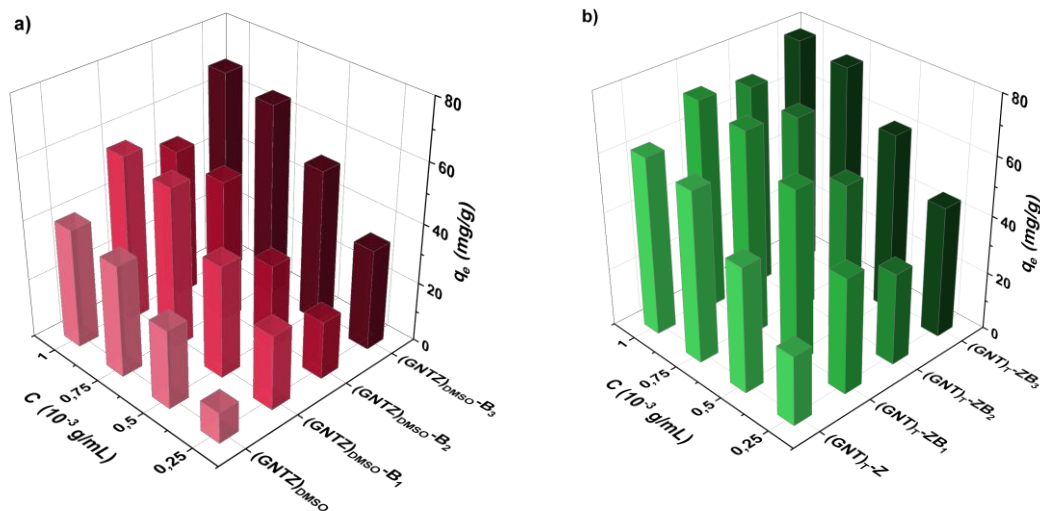


Figura 6.21. Cantitatea de TCH sorbită de microparticulele hibride și hibride zwiterionice obținute prin grefarea zeinei a) în timpul polimerizării în suspensie sau b) după polimerizare, pentru mai multe concentrații inițiale de TCH.

Capacitatea de sorbție crește odată cu creșterea concentrației inițiale a soluției de medicament, iar microparticulele hibride zwiterionice au o capacitate de încărcare superioară în comparație cu omologii lor care nu au fost betainizați, cantitățile cele mai mari de TCH regăsindu-se în cazul microparticulelor $(GNTZ)_{DMSO-B_3}$ (67 mg/g) și respectiv $(GNT)_T-ZB_3$ (78,56 mg/g).

Capacitatea de eliberare a TCH din microparticulele hibride și hibride zwiterionice a fost studiată la $pH = 1,2$ timp de 2h după care la $pH = 7,4$ până la atingerea echilibrului iar curbele de eliberare sunt ilustrate în Figura 6.24. Reprezentările grafice arată că eliberarea TCH are loc cu viteză mai mică în cazul microparticulelor hibride, comparativ cu cele hibride zwiterionice, care datorită unei umflări accentuate, permit difuzia rapidă a medicamentului. Valorile exponentului difuzional n calculat pe baza modelului Korsmeyer-Peppas cuprinse între 0,512 și 0,610 sugerează că mecanismul de eliberare al tetraciclinei din microparticulele hibride/hibride zwiterionice este unul complex fiind caracteristic unei difuzii anormale sau

non-Fickiană. Prin aplicarea modelului Kopcha s-a concluzionat că mecanismul dominant de eliberare a medicamentului este difuzia, iar microparticulele eliberează medicamentul fără a suferi procese de eroziune.

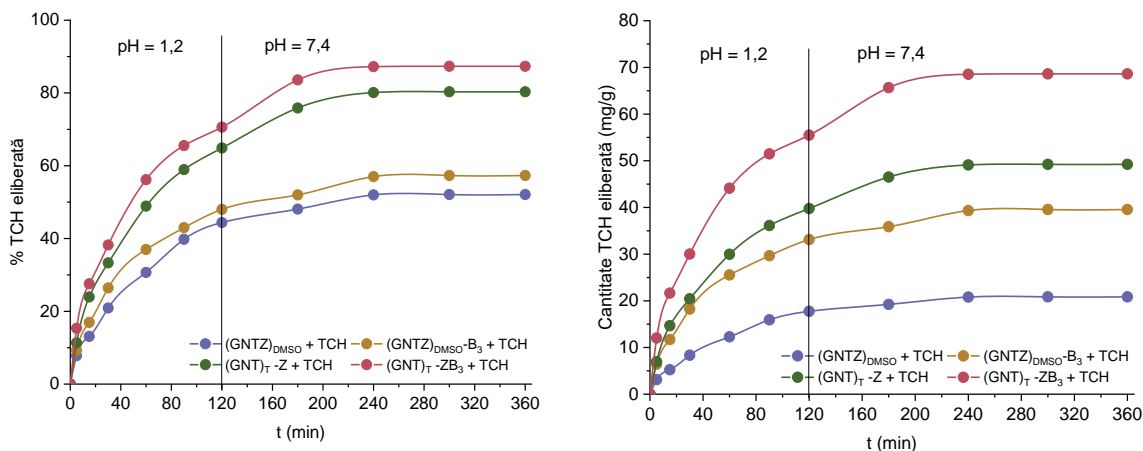


Figura 6.24. Curbele de eliberare a TCH din microparticulele $(GNTZ)_{DMSO}+TCH$, $(GNTZ)_{DMSO}-B_3+TCH$, $(GNT)_T-Z+TCH$ și $(GNT)_T-ZB_3+TCH$.

6.4. Testarea activității antimicrobiene a microparticulelor sintetizate

Activitatea antimicrobiană a microparticulelor inițiale, zwitterionice și zwitterionice hibride a fost testată împotriva a patru tulpini bacteriene și anume: bacterii Gram pozitive (*Staphylococcus aureus* și *Enterococcus faecalis*) și bacterii Gram negative (*Escherichia coli* și *Klebsiella pneumoniae*).

6.4.1. Activitatea antimicrobiană a microparticulelor zwitterionice

Dintre microparticulele zwitterionice, proba $(GNT)_A-B_1$ a fost eficientă împotriva *K. pneumoniae* și *S. aureus*. Există diferențe importante între microparticulele $(GNT)_A-B_1$, $(GNT)_A-B_2$ și $(GNT)_A-B_3$ în ceea ce privește activitatea antimicrobiană împotriva *K. pneumoniae* și *S. aureus*, deși, din punct de vedere structural, acestea diferă doar prin lungimea lanțului alchil a unității de carboxibetaină. Deoarece prezența grupării $-CH_3$ situată între gruparea cationică și cea anionică, induce efecte sterice, se poate concluziona că structura zwitterionică ce conține gruparea carboxilat separată de atomul de azot cuaternar printr-un lanț alchil de lungime cât mai mică, favorizează activitatea antibacteriană.

6.4.2. Activitatea antimicrobiană a microparticulelor hibride și hibride zwitterionice

În Figura 6.27 este prezentată activitatea antimicrobiană atât a microparticulelor hibride obținute prin polimerizarea în suspensie cât și a microparticulelor hibride zwitterionice corespunzătoare. Microparticulele $(GNTZ)_{DMSO}-B_1$, $(GNTZ)_{DMSO}-B_2$ și $(GNTZ)_{DMSO}-B_3$ au

fost foarte eficiente împotriva tuturor tulpinilor bacteriene testate (distrugând până la 97% din celulele bacteriene), activitatea antibacteriană fiind net superioară microparticulelor precursore și a celor hibride. Se pare că introducerea de grupări zwitterionice de tip carboxibetaină contribuie semnificativ la creșterea activității antibacteriene cu impact negativ major asupra viabilității celulelor bacteriene.

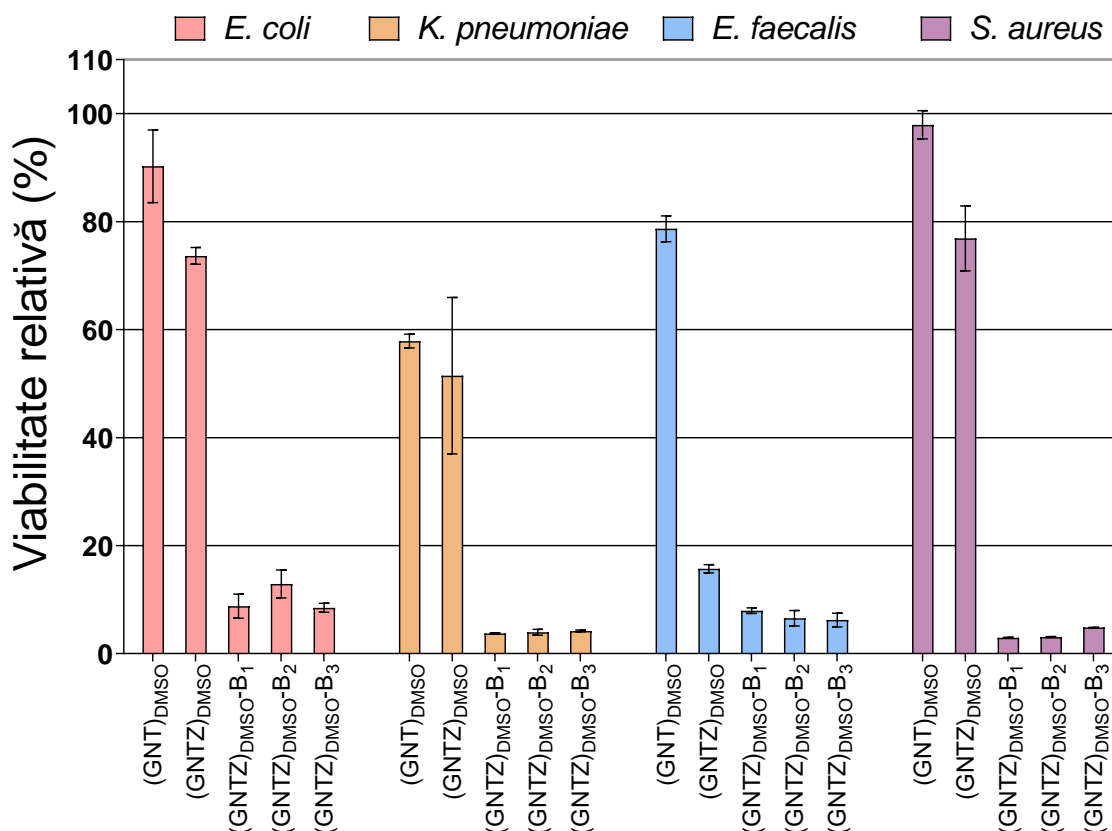


Figura 6.27. Activitatea antimicrobiană a microparticulelor hibride obținute prin polimerizarea în suspensie și a microparticulelor hibride zwitterionice corespunzătoare împotriva tulpinilor de referință.

Microparticulelor hibride obținute prin grefarea post-polimerizare a zeinei și cele hibride zwitterionice corespunzătoare au fost eficiente împotriva tulpinii bacteriene *E. faecalis*, distrugând până la 90% din celulele bacteriene. Pentru *S. aureus* doar proba (GNT)_T-ZB₁ a fost moderat eficientă, viabilitatea celulelor fiind de 60%. Pentru celelalte două tulpini bacteriene testate, microparticulele nebetainizate au avut cea mai slabă activitate antibacteriană, însă microparticulele (GNT)_T-ZB₁ s-au dovedit eficiente (distrugând până la 52% în cazul *E. coli* și până la 65% în cazul *K. pneumoniae*).

CAPITOLUL 7

CONCLUZII GENERALE

Studiile originale prezentate în cadrul acestei teze de doctorat concluzionează următoarele:

- Prin metoda polimerizării în suspensie au fost sintetizate microparticule poroase pe bază de N-vinilimidazol, glicidil metacrilat și unul din cei patru reticulanți: etilenglicol dimetacrilat, dietilenglicol dimetacrilat, trietilenglicol dimetacrilat și divinilbenzen.

- S-a evaluat influența mai multor parametri asupra randamentului de sinteză și suprafeței specifice concluzionându-se că cele mai bune condiții pentru sinteza microparticulelor poroase sunt: procent NVI 30%, reticulant TEGDMA, grad de reticulare 30%, diluție 0,5, sistem de stabilizare alcătuit din PAV, GEL și $MgCl_2$, PAV cu masă moleculară 52650 g/mol și grad de hidroliză 88% și viteza de agitare din interiorul reactorului de 300 rpm (Capitolul 3, Subcapitolul 3.3.);

- Au fost sintetizate în condiții optime microparticule poroase folosind drept agenți porogeni toluen, $(GNT)_T$, acetat de n-butyl, $(GNT)_A$, și un amestec al acestora (1:1 v/v), $(GNT)_{TA}$, obținându-se microparticule sferice cu diametre medii cuprinse între 200 și 350 μm (Capitolul 3, Subcapitolul 3.3.1.);

- Cele trei tipuri de microparticule au fost betainizate folosind cloroacetat de sodiu, acid acrilic, acid metacrilic sau 1,3-propansultonă. Cele mai ridicate grade de betainizare (determinate prin analiza spectrelor FTIR) s-au obținut în cazul cloroacetatului de sodiu și cele mai scăzute în cazul 1,3-propansultonei (Capitolul 4, Subcapitolul 4.1.1.);

- Microparticulele zwiterionice obținute au fost caracterizate prin spectroscopie FTIR, analiză SEM-EDAX, microscopie de forță atomică, porozimetrie cu mercur, microscopie optică și studii de umflare (Capitolul 4, Subcapitolele 4.1.2.-4.1.6);

- Microparticulele hibride cu zeină au fost sintetizate prin două metode: grefare prin adăugarea zeinei în faza organică în timpul polimerizării în suspensie, sau grefare post-polimerizare la nivelul microparticulelor poroase prezentate în Capitolului 3 (Capitolul 5, Subcapitolul 5.1.1.1.-5.1.1.2.).

- S-a demonstrat că pentru a grefa o cantitate cât mai mare de zeină, procesul trebuie să se desfășoare în următoarele condiții: soluție de zeină 3% (m/v) în metanol 80% (v/v),

temperatura de 60°C, timp de reacție de 5 ore și pH = 10 (pentru favorizarea deschiderii ciclului epoxi) (Capitolul 5, Subcapitolul 5.1.1.2.).

- Cele două tipuri de microparticule hibride au fost supuse procesului de betainizare cu cloroacetat de sodiu, acid acrilic și acid metacrilic (Capitolul 5, Subcapitolul 5.1.1.3.). Spectroscopia FTIR confirmă că grefarea zeinei și procesul de betainizare au decurs cu succes.

- Capacitatea de umflare a microparticulelor hibride crește în urma betainizării și este influențată în principal de gradul de betainizare și nu de natura agentului de betainizare folosit. (Capitolul 5, Subcapitolul 5.1.8.).

- S-a realizat încărcarea cu clorhidrat de doxiciclină a microparticulelor zwiterionice (GNT)_{A-B1}, (GNT)_{A-B2}, (GNT)_{A-B3}. Medicamentul este cel mai bine sorbit de către microparticule la pH = 8,5, temperatura de 308 K, timp de contact de 6 ore. Microparticulele zwiterionice rețin cantități mai mari de doxiciclină, comparativ cu proba (GNT)_A, iar dintre acestea, (GNT)_{A-B1}, acumulează cea mai mare cantitate de medicament (Capitolul 6, Subcapitolul 6.1.1.).

- Izotermele Langmuir, Freundlich și Dubinin–Radushkevich sunt potrivite pentru caracterizarea procesului de sorbție al clorhidratului de doxiciclină și sugerează că acesta este un proces care decurge după un mecanism de schimb ionic (Capitolul 6, Subcapitolul 6.1.3.).

- Eliberarea DCH are loc cu viteză mai mare în cazul microparticulelor (GNT)_T și mai lent în cazul microparticulelor (GNT)_{A-B1}. Eliberarea este mai rapidă în mediu acid datorită umflării mai accentuate a microparticulelor.

- Microparticulele zwiterionice hibride au fost încărcate cu clorhidrat de tetraciclină, cantitățile cele mai mari de TCH regăsindu-se în cazul microparticulelor (GNTZ)_{DMSO-B3} (67 mg/g) (GNT)_{T-ZB3} (78,56 mg/g). În condițiile fiziologice simulate microparticulele (GNT)_{T-ZB3} asigură eliberarea cea mai eficientă (>80% din cantitatea de TCH sorbită inițial).

- Activitatea antimicrobiană a microparticulelor zwiterionice și zwiterionice hibride a fost testată împotriva tulpinilor de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* și *Klebsiella pneumoniae*. Proprietățile antibacteriene intrinseci sunt îmbunătățite de prezența grupărilor zwiterionice și de zeină. Cea mai bună activitate antibacteriană este prezentată de către microparticulele zwiterionice pe bază de (GNTZ)_{DMSO}, acestea reducând viabilitatea tuturor tulpinilor bacteriene cu peste 80% (Capitolul 6, Subcapitolul 6.4.1.).

DISEMINAREA REZULTATELOR

Rezultatele prezentate în această teză de doctorat au făcut obiectul a **3** articole indexate ISI, **5** comunicări orale și **2** postere prezentate în cadrul unor conferințe internaționale:

Articole ISI:

1. S. Racovita, **M.-A. Trofin**, D. F. Loghin, M.-M. Zaharia, F. Bucatariu, M. Mihai, S. Vasiliu, Polybetaines in biomedical applications, *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 9321, 2021 (FI₂₀₂₂ = 5,6).
2. **M.-A. Trofin**, S. Racovita, S. Vasiliu, A.-L. Vasiliu, M. Mihai, Porous crosslinked zwitterionic microparticles based on glycidyl methacrylate and N-vinylimidazole as possible drug delivery systems, *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 2022 (FI₂₀₂₂ = 5,6).
3. **M.-A. Trofin**, S. Racovita, S. Vasiliu, A. Bargan, F. Bucatariu, A.-L. Vasiliu, M. Mihai, Synthesis of crosslinked microparticles based on glycidyl methacrylate and N-vinylimidazole, *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2300253, 2023 (FI₂₀₂₂ = 2,5).

Comunicări orale:

1. Zwitterionic porous microparticles containing betaine units with drug delivery capabilities, **M.-A. Trofin***, S. Vasiliu, S. Racovita, M. Mihai, *23rd International Conference of Materials, Methods & Technologies*, 19-22 august 2021, Burgas, Bulgaria.
2. Zwitterionic porous microparticles - Advanced materials as potential drug delivery systems, **M.-A. Trofin***, S. Racovita, S. Vasiliu, A.-L. Vasiliu, M. Mihai, *2nd ICMPP - Open door to the future. Scientific communications of young researchers*, 19 noiembrie 2021, Iași, România.
3. Porous crosslinked microparticles based on glycidyl methacrylate and n-vinylimidazole as precursors for advanced polymeric materials, **M.-A. Trofin***, S. Racovita, A.-L. Vasiliu, S. Vasiliu, M. Mihai, *12th International Conference on Materials Science & Engineering*, 9-12 martie 2022, Brașov, România.
4. Release studies of tetracycline from zwitterionic crosslinked copolymer with carboxybetaine units, **M.-A. Trofin***, S. Vasiliu, S. Racovita, M. Mihai, *Workshop*

exploratoriu NextChem – tehnologii inovatoare trans-sectoriale, ediția a 4-a, 19-20 mai 2022, Bucuresti, Romania.

5. New hybrid crosslinked microparticles containing zein for drug delivery, **M.-A. Trofin***, S. Racovita, A.-L. Vasiliu, S. Vasiliu, M. Mihai, *20th Polymers National Symposium*, 5-8 iulie 2022, Velingrad, Bulgaria.

Postere:

1. Soft materials as zwitterionic porous microparticles with drug delivery capabilities, A.-L. Vasiliu, **M.-A. Trofin**, S. Vasiliu, Ș. Racoviță, D. F. Loghin, M. Mihai, *International Conference on Interfaces*, 21-25 septembrie 2021, Pula, Italia.
2. New zwitterionic copolymer with carboxybetaine moieties as possible drug delivery system, **M.-A. Trofin**, S. Racovita, S. Vasiliu, A.-L. Vasiliu, D. F. Loghin, O. Boita, M. Mihai, *28th International Conference Progress in Organic and Macromolecular Compounds, Macro Iași*, 7-9 octombrie 2021, Iași, România.

Alte rezultate conexe cu aceasta teză de doctorat, dar neincluse în lucrare, au făcut obiectul a **2 articole științifice** publicate în reviste indexate și cotate ISI, **6 comunicări orale** și **3 postere** prezentate în cadrul unor conferințe internaționale:

Articole ISI:

1. M.-M. Zaharia, C.-A. Ghiorghita, **M.-A. Trofin**, F. Doroftei, I. Rosca, M. Mihai, Multifunctional composites of zwitterionic resins and silver nanoparticles for point-of-demand antimicrobial applications, *Materials Chemistry and Physics*, 275, 125225, 2022 (FI₂₀₂₂ = 4,6).
2. M.-M. Zaharia, A.-L. Vasiliu, **M.-A. Trofin**, D. Pamfil, F. Bucatariu, S. Racovita, M. Mihai, Design of multifunctional composite materials based on acrylic ion exchangers and CaCO₃ as sorbents for small organic molecules, *Reactive and Functional Polymers*, 166, 2021 (FI₂₀₂₂ = 5,1).

Comunicări orale:

1. Nano-silver in-situ synthesis in zwitterionic beads, as antimicrobial inorganic/organic composites, M. Mihai, M.-M. Zaharia, C.-A. Ghiorghita, M. M. Bazarghideanu, **M.-A. Trofin***, *23rd International Conference of Materials, Methods & Technologies*, 19-22 august 2021, Burgas, Bulgaria.

2. Synthesis and characterization of quartz sand/polyethyleneimine composite particles with application in water cleaning, F. Bucatariu*, M.-M. Zaharia, L.-M. Petrilă, **M.-A. Trofin**, M. Mihai, *11th International Conference on Environmental Engineering and Management*, 8-10 septembrie 2021, Iași, România.
3. Daisogel/(polycation/polyanion) composite microparticles with affinity for emerging pollutants, M. Mihai, L.-M. Petrilă, **M.-A. Trofin**, M.-M. Zaharia, F. Bucatariu, *11th International Conference on Environmental Engineering and Management*, 8-10 septembrie 2021, Iași, România.
4. Synthesis of inexpensive and reusable ion exchange resins with high retention capacity toward heavy metal ions from Târnița surface waters, M.-M. Zaharia*, F. Bucatariu, M. Ignat, **M.-A. Trofin**, M. Mihai, *11th International Conference on Environmental Engineering and Management*, 8-10 septembrie 2021, Iași, România.
5. Zwitterionic grafted gellan: synthesis, solution and gel properties, M. Karayianni, **M.-A. Trofin***, M. Mihai, S. Pispas, *3rd ICMPP - Open door to the future. Scientific communications of young researchers*, 18 noiembrie 2022, Iași, România.
6. Sulfobetaine functionalized gellan gum: synthesis, solution and gel properties, **M.-A. Trofin***, M. Karayianni, S. Racovita, S. Vasiliu, S. Pispas, M. Mihai, *Workshop exploratoriu NextChem – tehnologii inovatoare trans-sectoriale, ediția a 5-a*, 22-23 mai 2023, București, România.

Postere:

1. Synthesis and characterization of acrylic ion exchange resins and their environmental applications as sorbents, M.-M. Zaharia, A.-L. Vasiliu, **M.-A. Trofin**, M.-M. Bazarghideanu, C. Blegescu, M. Mihai, *28th International Conference Progress in Organic and Macromolecular Compounds*, 7-9 octombrie 2021, Iași, România.
2. Electrostatic complexation between zwitterionic grafted gellan gum and zein, **M.-A. Trofin**, M. Karayianni, S. Vasiliu, S. Racoviță, M. Mihai, S. Pispas, *12th Conference of Hellenic Biomaterials Society*, 15-17 decembrie 2022, Atena, Grecia.
3. Synthesis and solution properties of soluble zwitterionic derivatives of gellan gum, **M.-A. Trofin**, M. Karayianni, S. Racovita, S. Vasiliu, S. Pispas, M. Mihai, *37th Conference of European Colloid & Interface Society*, 3-8 septembrie 2023, Napoli, Italia.

Stagii de cercetare:

1. 25.10 - 07.11.2021, scurt stagiul de cercetare în cadrul proiectului „Microparticule poroase zwiterionice cu zeină și unități betainice cu activitate antimicrobiană și capacitate de transport de medicamente”, Institutul de Cercetare a Polimerilor, Dresda, Germania
2. 17.09 - 17.10.2022, scurt stagiul de cercetare în cadrul proiectului „Microparticule poroase zwiterionice cu zeină și unități betainice cu activitate antimicrobiană și capacitate de transport de medicamente, Institutul de Chimie Teoretică și Fizică, Fundația Națională Elenă de Cercetare, Atena, Grecia.

BIBLIOGRAFIE

- Costa, L. C., Monteiro, R. C., Castro, H. M. A., Ribeiro, T. S., Oliveira, M. A., Torquato, E. C. C., Arcanjo, M. E., & Marques, M. R. C. (2020). Glycidyl Methacrylate-ethylene Glycol Dimethacrylate Copolymers with Varied Pore Structures Prepared with Different Reaction Parameters. *Materials Research*, 23(3). <https://doi.org/10.1590/1980-5373-mr-2019-0550>
- Higuchi, W. I. (1967). Diffusional Models Useful in Biopharmaceutics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56(3), 315–324. <https://doi.org/10.1002/jps.2600560302>
- Kopcha, M., Tojo, K. J., & Lordi, N. G. (2011). Evaluation of Methodology for Assessing Release Characteristics of Thermosoftening Vehicles. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 42(11), 745–751. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1990.tb07014.x>
- Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(83\)90064-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9)
- Racovita, S., Trofin, M. A., Loghin, D. F., Zaharia, M. M., Bucatariu, F., Mihai, M., & Vasiliu, S. (2021). Polybetaines in biomedical applications. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms22179321>
- Talevi, A., & Ruiz, M. E. (2021). Baker-Lonsdale Model of Drug Release. In *The ADME Encyclopedia* (pp. 1–7). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51519-5_37-1
- Trofin, M., Racovita, S., Vasiliu, S., Bargan, A., Bucatariu, F., Vasiliu, A., & Mihai, M. (2023). Synthesis of Crosslinked Microparticles based on Glycidyl Methacrylate and N-vinylimidazole. *Macromolecular Chemistry and Physics*. <https://doi.org/10.1002/macp.202300253>
- Trofin, M.-A., Racovita, S., Vasiliu, S., Vasiliu, A.-L., & Mihai, M. (2022). Porous Crosslinked Zwitterionic Microparticles Based on Glycidyl Methacrylate and N-Vinylimidazole as Possible Drug Delivery Systems. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14999. <https://doi.org/10.3390/ijms232314999>