

RAPORT ȘTIINȚIFIC SINTETIC

privind implementarea proiectului

MICROPARTICULE POROASE ZWITERIONICE CARE CONȚIN ZEINĂ ȘI UNITĂȚI BETAINICE, CU ACTIVITATE ANTIMICROBIANĂ ȘI CAPACITATE DE ADMINISTRARE DE MEDICAMENTE

Cod proiect: PN-III-P4-ID-PCE-2020-1541

ETAPA 2021

MICROPARTICULE POROASE RETICULATE

Echipa proiectului

Dr. Marcela MIHAI, director proiect

Dr. Silvia VASILIU

Dr. Ștefania RACOVITĂ

Dr. Florin BUCĂTARIU

Dr. Claudiu-Augustin GHIORGHITĂ

Dr. Diana-Felicia LOGHIN

Dr. Marius-Mihai ZAHARIA

Drd. Ana-Lavinia VASILIU

Drd. Main-Aurel TROFIN

Tehnician Angela PELIN

ETAPA I. MICROPARTICULE POROASE RETICULATE

OBIECTIV 1. SINTEZA MICROPARTICULELOR POLIMERE RETICULATE. CARACTERIZAREA AVANSATĂ A MICROPARTICULELOR SINTETIZATE ȘI A DERIVAȚILOR INTERMEDIARI

A1.1. Sinteza microparticulelor poroase pe bază de glicidil metacrilat, N-vinilimidazol și mono, di și trietilenglicol dimetacrilat

A1.2. Sinteza de microparticule poroase pe bază de glicidil metacrilat, N-vinilimidazol și divinilbenzen

A1.3. Caracterizarea structurală a microparticulelor reticulate poroase

A1.4. Caracterizarea din punct de vedere a morfologiei microparticulelor reticulate poroase

A1.5. Evaluarea efectelor monomerilor reticulați asupra funcționalității lor

OBIECTIV 2. DISEMINAREA REZULTATELOR

Scopul principal al proiectului de cercetare este de a obține microparticule poroase zwitterionice care conțin în structură zeină și unități betainice și care au proprietăți antimicrobiene și capacitate de a imobiliza și elibera diverse medicamente. În acest context, **obiectivul principal** al primei etape a constat în **sinteza de microparticule poroase pe bază de glicidil metacrilat (GMA), N-vinilimidazol (NVI) și diferiți reticulanți [monoetilenglicol dimetacrilat (EGDMA), dietilenglicol dimetacrilat (DEGDMA), trietilenglicol dimetacrilat (TEGDMA) și divinilbenzen (DVB)]** care să posede diferite grupe funcționale capabile de a participa la diferite reacții chimice precum reacții de polimerizare, reacții de deschidere de ciclu și reacții de betainizare. De asemenea, s-a studiat influența diferiților parametri de reacție (raportul dintre monomeri, tipuri de agenți de reticulare, tipuri de diluanți, grad de reticulare) asupra randamentului de reacție, a capacității de umflare în diferiți solvenți și a morfologiei microparticulelor pentru a găsi condițiile optime pentru sinteza microparticulelor care să posede proprietățile dorite în vederea transformărilor chimice ulterioare.

OBIECTIV 1: SINTEZA MICROPARTICULELOR POLIMERE RETICULATE. CARACTERIZAREA AVANSATĂ A MICROPARTICULELOR SINTETIZATE ȘI A DERIVAȚILOR INTERMEDIARI

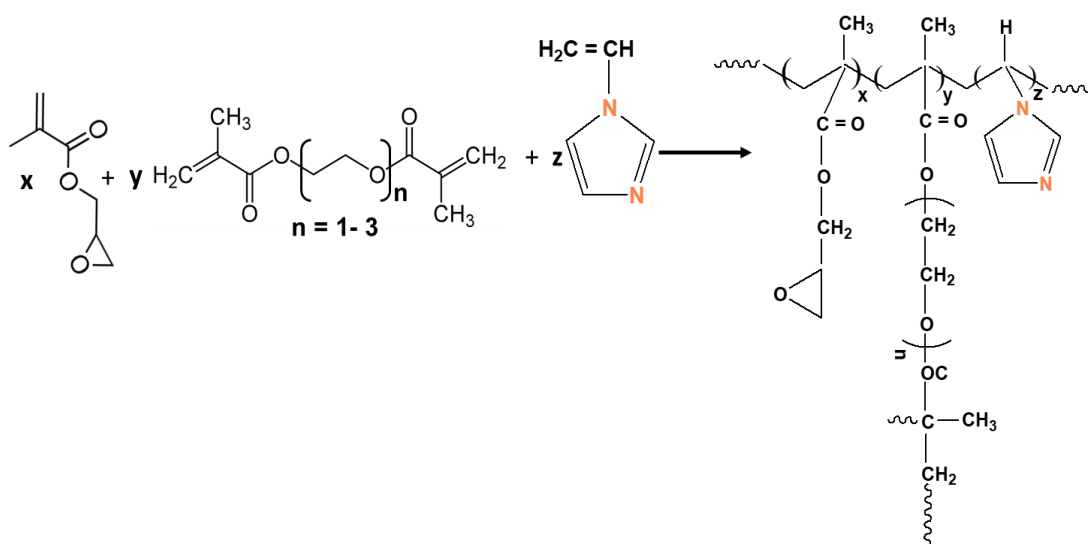
Datorită avantajelor funcționale pe care le conferă, materialele polimere reticulate pot avea aplicații diverse, precum ca materiale adsorbante, catalizatori inerți, precursori pentru schimbătorii de ioni, suporturi pentru imobilizarea unor principii biologice active sau celule ale unor microorganisme. Materialele reticulate poroase prezintă proprietăți unice, precum suprafață specifică mare, densitate scăzută și o capacitate superioară de sorbție. Caracteristicile unui material poros variază în funcție de mărimea, dispunerea și forma porilor precum și de porozitate și compoziția materialului în sine.

A 1.1. Sinteza microparticulelor poroase pe bază de glicidil metacrilat, N-vinilimidazol și mono, di și trietilenglicol dimetacrilat

Alegerea sistemului de reacție și a metodei de sinteză s-a realizat în funcție de scopul final urmărit în acest proiect și anume obținerea de materiale poroase zwitterionice care să conțină în structură zeină și unități betainice. Astfel:

- glicidil metacrilatul este un monomer metacrilic care prezintă o toxicitate scăzută comparativ cu alți monomeri acrilici și metacrilici și care posedă două grupe funcționale și anume: una metacrilică care poate participa la reacții de polimerizare radicalică și una epoxidică care ulterior poate participa la reacții cu deschidere de ciclu, făcând astfel posibilă grefarea zeinei în mediu bazic;
- N-vinilimidazolul este un monomer vinilic capabil de a participa la reacții de polimerizare radicalică și de a forma materiale care pot prezenta biocompatibilitate, biodegradabilitate și activitate antimicrobiană. De asemenea, prezintă în structura chimică ciclul imidazolic cu un atom de N terțiar neîmpiedicat steric care prin intermediul reacțiilor polimer analoge în prezența unor agenți de betainizare adecvați poate conduce la obținerea de polimeri cu unități betainice;
- monomerii dimetacrilici cu două grupe funcționale metacrilice sunt capabili să formeze rețele polimere reticulate.

Sinteza microparticulelor poroase pe bază de GMA, NVI și mono, di și trietilenglicol dimetacrilat s-a realizat prin polimerizare în suspensie urmând schema de reacție prezentată în Schema 1:



Schema 1. Reacția de sinteză a rețelelor polimere reticulate pe bază de GMA, NVI și mono, di și trietilenglicol dimetacrilat

Dintre metodele clasice și moderne de preparare a microparticulelor poroase s-a ales polimerizarea în suspensie deoarece prezintă o serie de avantaje tehnice și economice, cum ar fi: prețul de cost redus în comparație cu diversitatea proprietăților particulelor poroase; obținerea unei structuri interne prestabilite; obținerea de structuri poroase; ușurința de utilizare și de separare a particulelor rezultate în urma proceselor de sinteză; un număr redus de componente utilizate în sistemul de polimerizare în comparație cu tehnica emulsiei; purificarea produsului final se face prin procedee simple (spălare, distilare cu abur). Procesul de polimerizare în suspensie constă din două faze:

- faza organică formată din GMA, NVI, agent de reticulare, inițiator radicalic de polimerizare și agentul porogen;
- faza apoasă formată din apă distilată ca mediu de dispersie și stabilizatorul de suspensie.

În reactor se introduce faza apoasă, agitându-se amestecul timp de 30 de minute la temperatura de 50-55°C după care se adaugă faza organică sub formă de picături.

Pentru realizarea reacției de copolimerizare radicalică reticulantă se ridică temperatura la 78-80°C timp de 8 ore, iar pentru maturarea particulelor sferice de copolimer temperatura trebuie să fie menținută la 90°C timp de 1 oră. După terminarea reacției de copolimerizare, microparticulele poroase reticulate sunt separate prin filtrare și spălate cu apă caldă fiind apoi introduse într-un aparat Soxhlet în vederea extracției cu solvent a agentului porogen și a eventualilor homopolimeri formați în timpul reacției de copolimerizare. În vederea caracterizării structurale și morfologice, microparticulele poroase reticulate sunt uscate la vid, la temperatura de 50°C, timp de 48h.

Formarea structurilor copolimere reticulate depinde de cantitatea și natura atât a monomerilor cât și a agenților porogeni. Mecanismul de formare a microparticulelor poroase prin polimerizarea în suspensie este unul extrem de complex fiind ilustrat în Figura 1.

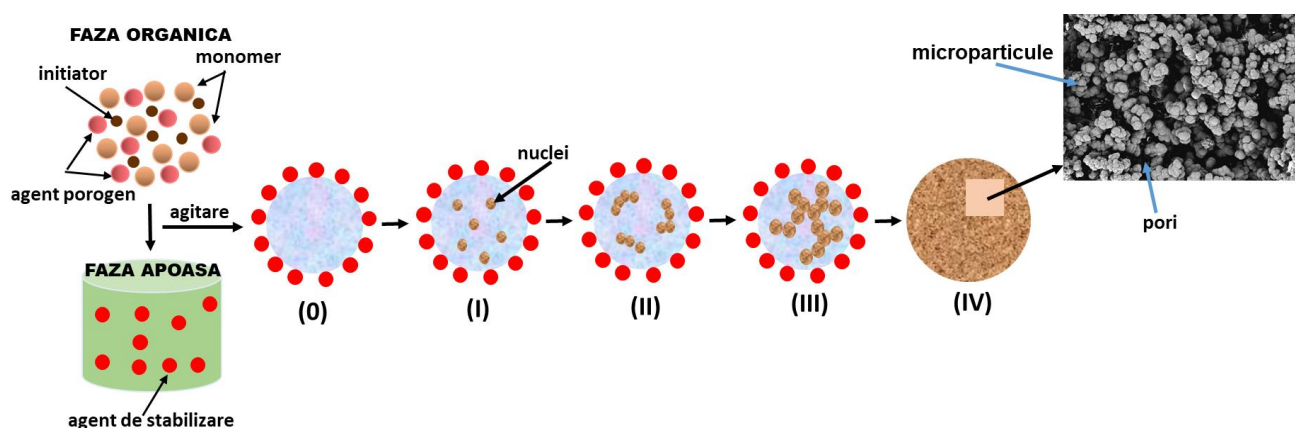


Figura 1. Mecanismul de formare a microparticulelor poroase obținute cu ajutorul polimerizării în suspensie

Codurile microparticulelor poroase reticulate s-au stabilit după cum urmează:

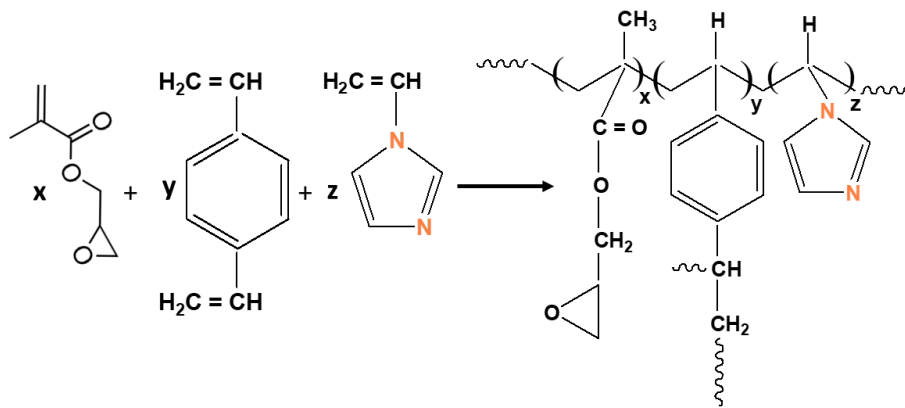
- $G_xN_yE_z$ - microparticule poroase reticulate pe bază de GMA, NVI și EGDMA;
- $G_xN_yD_z$ - microparticule poroase reticulate pe bază de GMA, NVI și DEGDMA;
- $G_xN_yT_z$ - microparticule poroase reticulate pe bază de GMA, NVI și TEGDMA.

În toate cazurile x, y și z reprezintă numărul de moli al monomerilor utilizați în reacția de polimerizare în suspensie.

Microparticulele poroase reticulate s-au obținut prin modificarea următorilor parametri: raportul molar dintre monomeri, masa moleculară și gradul de hidroliză a poli(alcoolului vinilic), natura și cantitatea agentului porogen (toluen și acetat de n-butil).

A1.2. Sinteza de microparticule poroase pe bază de glicidil metacrilat, N-vinilimidazol și divinilbenzen

Sinteza de microparticule poroase pe bază de GMA, NVI și DVB s-a realizat tot prin tehnica de polimerizare în suspensie putând fi evidențiată prin următoarea reacție chimică (Schema 2):



Schema 2. Reacția de sinteză a rețelilor polimere reticulate pe bază de GMA, NVI și DVB

Polimerizarea în suspensie a GMA și NVI în prezența DVB urmează același mecanism de reacție specific polimerizării radicalice iar modul de formare a structurilor poroase este identic cu cel prezentat în cazul microparticulelor poroase reticulate obținute în prezența monomerilor dimetacrilici utilizați ca agenți de reticulare.

A1.3. Caracterizarea structurală a microparticulelor reticulate poroase

Din punct de vedere structural, microparticulele reticulate poroase au fost caracterizate prin spectroscopie FTIR (Figura 2), termogravimetrie (Figura 3), și prin analiză elementală, mai precis prin determinarea conținutului de azot și de grupe epoxy (Tabel 1).

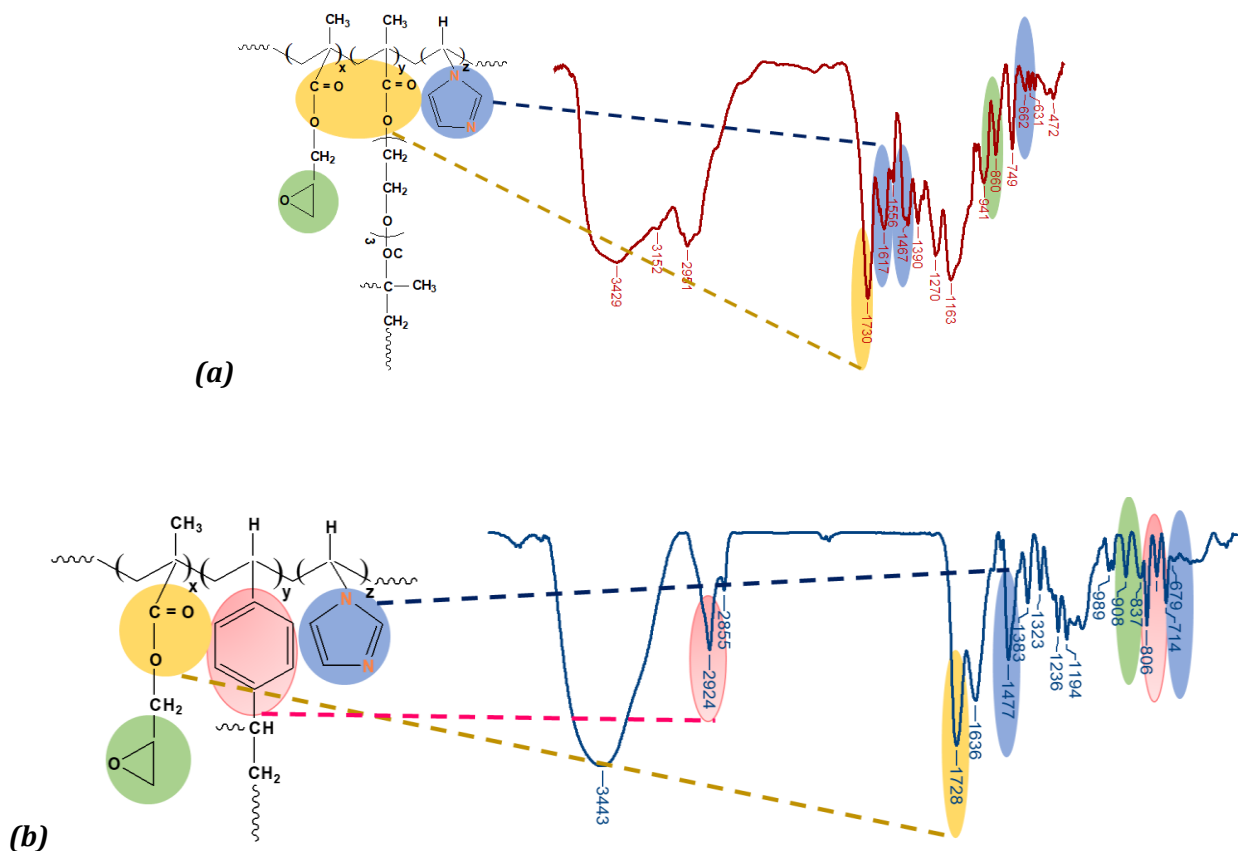


Figura 2. Caracterizarea structurală prin spectroscopie FTIR a microparticulelor reticulate poroase (a) $G_{40}N_{30}T_{30}$ și (b) $G_{40}N_{30}DVB_{30}$

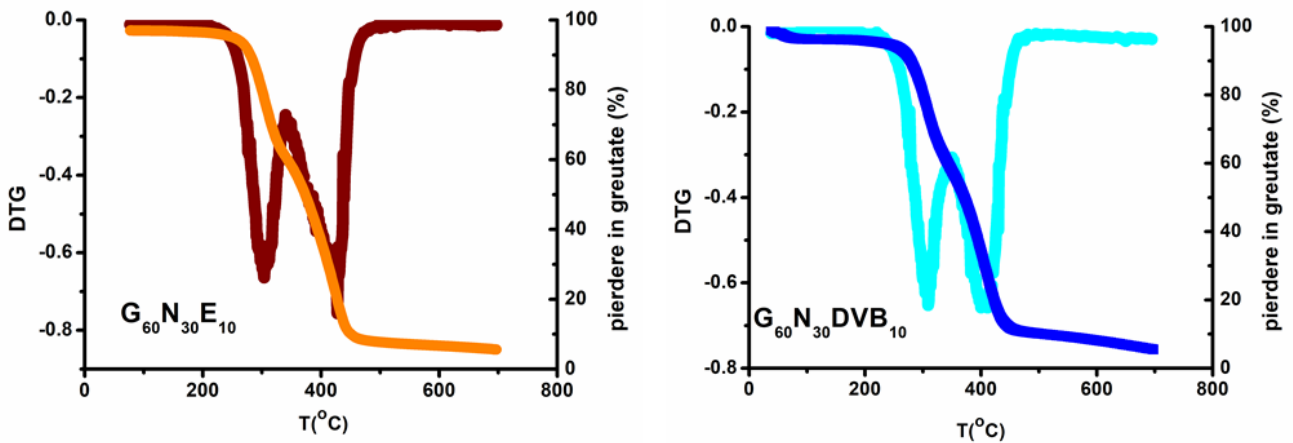


Figura 3. Analiza termogravimetrică a microparticulelor poroase reticulate

În spectrele FT-IR ale microparticulelor $G_{40}N_{30}T_{30}$ și $G_{40}N_{30}DVB_{30}$ se regăesc benzile de absorbție specifice atât pentru GMA cât și pentru NVI și TEGDMA sau DVB, confirmând obținerea de microparticule reticulate pe bază de GMA, NVI și TEGDMA sau DVB. De asemenea, comportamentul termogravimetric al microparticulelor poroase $G_{60}N_{30}E_{10}$ și $G_{60}N_{30}DVB_{10}$ arată că acestea sunt stabile termic până la aproximativ 270°C și prezintă două etape de degradare.

Din punct de vedere al analizei elementale, determinarea conținutului de grupe epoxidice s-a realizat prin metoda titrimetrică ce constă în deschiderea inelului epoxidic de către HCl într-o soluție de dioxan, la temperatura camerei, iar procentul de azot a fost determinat prin metoda Kjeldhal (Tabel 1).

Tabel 1. Caracterizarea microparticulelor poroase prin analiza elementală (% N și % grupe epoxidice)

Cod probă	N (%)		grupe epoxidice (%)	
	teoretic	experimental	teoretic	experimental
$G_{60}N_{30}E_{10}$	6,30	2,65	19,35	7,23
$G_{60}N_{30}DVB_{10}$	6,47	2,11	19,88	6,23

Rezultatele obținute sugerează că metoda titrimetrică poate fi utilă pentru determinarea numărului de grupe epoxidice de pe suprafață și din straturile superficiale, și nu în volum.

A1.4. Caracterizarea din punct de vedere morfologic a microparticulelor reticulate poroase

Caracterizarea din punct de vedere morfologic a microparticulelor s-a realizat cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj (Figura 4), microscopiei de forță atomică (Figura 5) și al analizorului de imagine a dimensiunii și formei particulelor (Figura 6).

Atât imaginile SEM cât și cele AFM evidențiază faptul că prin adăugarea în sistemul de reacție a unui agent porogen se obțin microparticule cu structură poroasă. Distribuția dimensională a microparticulelor este influențată de o serie de factori: geometrici (diametrul și forma vasului, tipul agitatorului), de funcționare (viteza de agitare și temperatura), caracteristicile fizice ale mediului de suspensie (densitate, tensiune interfacială și vâscozitate) dar și alți parametri de reacție (raportul dintre monomeri, natura reticulantului și a agentului porogen). Natura reticulantului influențează distribuția

dimensională a microparticulelor poroase în sensul că prin utilizarea monomerilor dimetacrilici ca agenți de reticulare se obțin microparticule cu diametre mai mari decât în cazul utilizării DVB-ului.

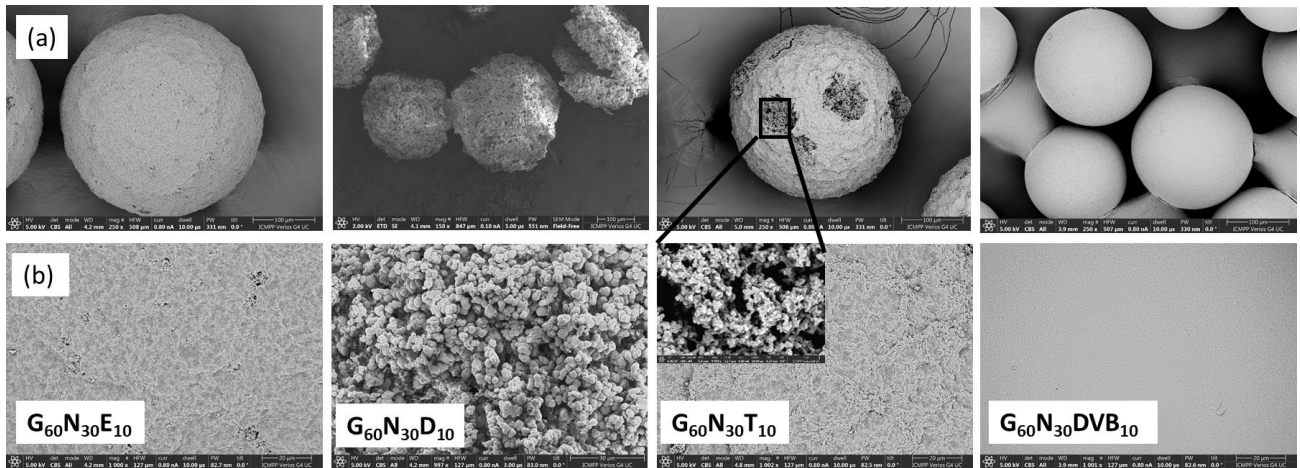


Figura 4. Imagini SEM ale unor microparticule reticulate poroase
(a) imagine de ansamblu; (b) imagine de pe suprafața microparticulelor

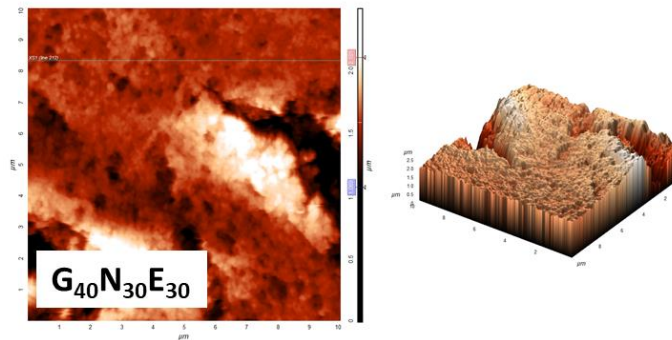


Figura 5. Imagini AFM ($10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$) pentru microparticulele poroase $G_{40}N_{30}E_{30}$

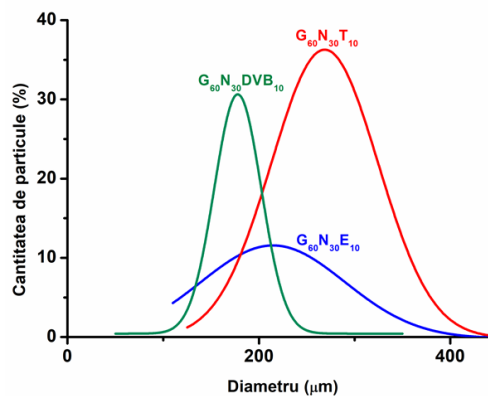


Figura 6. Influența naturii reticulantului asupra diametrelor microparticulelor poroase pe bază de GMA, NVI, monomeri dimetacrilici și DVB

Studiul comportării în mediu apos a microparticulelor obținute în această etapă este important pentru următoarele studii de funcționalizare a acestora ce vor face subiectul etapelor viitoare din cadrul proiectului. Pentru exemplificare, în Figura 7 este prezentat comportamentul la umflare în apă pentru:

- pentru microparticulele $G_{70}N_{20}E_{10}$, $G_{60}N_{30}E_{10}$ și $G_{45}N_{45}E_{10}$ atunci când se modifică raportul dintre GMA și NVI (Figura 7a), procentul de reticulant rămânând constant;
- pentru microparticulele $G_{60}N_{30}E_{10}$, $G_{50}N_{30}E_{20}$ și $G_{40}N_{30}E_{30}$ atunci când se modifică gradul de reticulare și se păstrează constant procentul de NVI (Figura 7b).

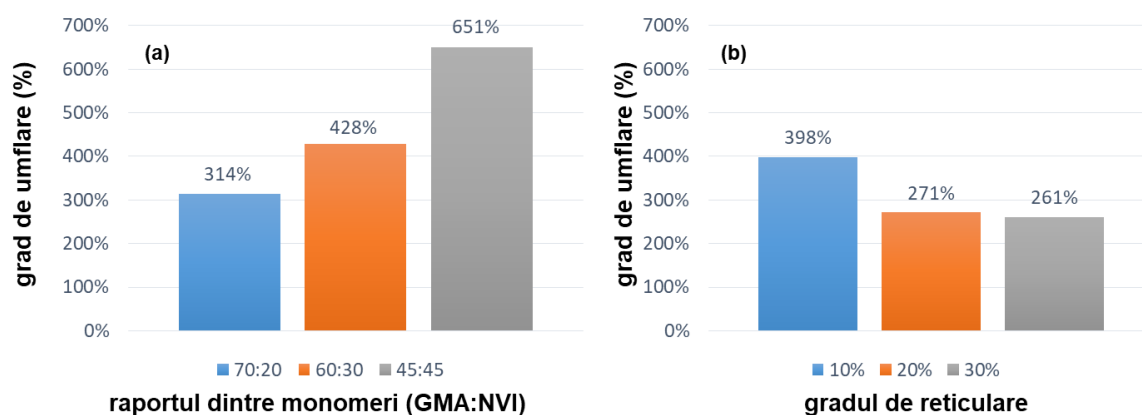


Figura 7. Influența raportului dintre monomeri (a) și a gradului de reticulare (b) asupra gradului de umflare în apă

Odată cu creșterea componentei hidrofile (NVI) din structura microparticulei crește și gradul de umflare în apă. Așa cum era de așteptat un grad mare de reticulare determină obținerea de microparticule cu o structură mai compactă care se umflă mai puțin în apă.

A1.5. Evaluarea efectelor reticulanților asupra funcționalității lor

Utilizarea unei concentrații mari de monomer dimetacrilic sau divinilic la formarea structurilor rețelelor reticulate obținute prin polimerizarea în suspensie conduce la:

- creșterea numărului de legături duble pendante în structura reticulată ce se formează;
- creșterea posibilității de reacție a ambelor legături duble;
- descreșterea eficienței reticulării odată cu creșterea conversiei;
- scăderea mobilității structurilor formate.

Toate aceste comportări pot fi interpretate pe seama evoluției structurii tridimensionale, reactivitatea legăturilor duble pendante fiind puternic afectată de corelările spațiale. Acest fenomen are ca rezultat creșterea probabilității de ciclizare simplă sau multiplă și duce la o descreștere a reactivității legăturilor duble datorate efectelor sterice ale structurilor formate. Așa cum s-a menționat la activitățile anterioare natura și cantitatea de agent de reticulare are influența atât asupra morfologiei și dimensiunii microparticulelor poroase cât și asupra gradului de umflare.

Rezultatele obținute în această etapă demonstrează că prin polimerizarea în suspensie apasă se pot obține, în funcție de condițiile de reacție, o gamă variată de microparticule poroase reticulate cu structuri și proprietăți diferite. În urma optimizării condițiilor de reacție se vor alege microparticulele cu cele mai bune proprietăți (suprafață specifică mare, capacitate de umflare bună și un randament de reacție cât mai apropiat de 100%) care vor fi utilizate în continuare pentru transformări chimice adecvate în scopul obținerii de microparticule zwitterionice poroase care conțin în structură zeină și unități betainice.

Toate rezultatele cercetărilor științifice prezentate în acest raport reprezintă proprietatea intelectuală a echipei proiectului PN-III-P4-ID-PCE-2020-1541 (ZWITTERZEIN) și sunt protejate de legislația națională și europeană în domeniu. Orice utilizare, reproducere, distribuire și modificare neautorizată, parțială sau integrală a acestor rezultate este strict interzisă fără acordul prealabil scris al autorilor care au participat în mod direct la derularea activităților de cercetare științifică.
