



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

MATERIALE POLISULFONICE CU PROPRIETĂȚI
BIOLOGIC ACTIVE

Rezumatul tezei de doctorat

Conducător de doctorat:

CS I DR. HABIL. LUMINIȚA MARIN

Student-doctorand:

OANA DUMBRAVĂ

ACADEMIA ROMÂNĂ
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași

Doamnei/Domnului

Vă facem cunoscut faptul că în ziua de **25 noiembrie 2025**, ora **11⁰⁰**, în **Sala de Conferințe a Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași**, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat **„Materiale polisulfonice cu proprietăți biologice active”**, autor **Oana Dumbravă**, în vederea acordării titlului științific de doctor.

PREȘEDINTE: *CS I Dr. Valeria Harabagiu*
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT: *CS I Dr. Habil. Luminița Marin*
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași

REFERENȚI: *Prof. Dr. Habil. Ing. Gabriela Lisa*
Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” Iași

Prof. Dr. Habil. Ramona Antoaneta Dănac
Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” Iași

CS I Dr. Habil. Maria Bercea
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași

În conformitate cu Regulamentul privind organizarea și desfășurarea doctoratului pentru acordarea titlurilor științifice în Academia Română, vă trimitem rezumatul tezei de doctorat cu rugămintea de a ne comunica aprecierile și observațiile dumneavoastră. Cu această ocazie vă invităm să participați la susținerea publică a tezei de doctorat.

Mulțumiri

Obținerea titlului de doctor reprezintă un pas important în dezvoltarea mea profesională, iar finalizarea acestei teze de doctorat nu ar fi fost posibilă fără sprijinul și îndrumarea constantă a numeroaselor persoane cărora le sunt profund recunoscătoare.

*În primul rând, aș dori să îi mulțumesc doamnei **Dr. Luminița Marin**, îndrumătorul științific al tezei de doctorat, pentru profesionalism, încredere, răbdare și sprijinul constant pe care mi le-a oferit pe întreg parcursul procesului de elaborare a tezei de doctorat.*

*Distinse mulțumiri și deosebită considerație adresez doamnelor **Prof. Dr. Ing. Gabriela Lisa**, **Prof. Dr. Ramona Antoaneta Dănac** și **Dr. Maria Bercea** pentru disponibilitatea și amabilitatea de a evalua conținutul tezei, precum și pentru sugestiile formulate.*

*Mulțumesc membrilor comisiei de îndrumare, în special doamnei **Dr. Anca Filimon**, pentru cunoștințele împărtășite și pentru sfaturile oferite în realizarea unor studii de cercetare.*

*Doresc să îmi exprim recunoștința profundă față de **Dr. Daniela Ailincăi** pentru contribuția sa la realizarea acestei teze, dar și pentru prietenia sa sinceră. Ideile sale, sprijinul constant și încurajările oferite au fost de neprețuit, iar încrederea și motivația pe care mi le-a insuflat au jucat un rol important în progresul meu în această perioadă.*

*Mulțumesc **Academiei Române** pentru suportul financiar acordat pe parcursul stagiului de doctorat, precum și **conducerii Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași** pentru sprijinul acordat în elaborarea tezei de doctorat și în instruirea mea ca cercetător.*

*Deosebite mulțumiri colegilor din cadrul **Laboratorului de Policondensare și Polimeri Termostabili**, care au fost alături de mine în această perioadă, ajutorul și încurajările lor au înfrumusețat această perioadă și au avut un impact pozitiv asupra evoluției mele ca tânăr cercetător. De asemenea, sunt recunoscătoare **colegilor din Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”** pentru sugestii, colaborare și contribuția directă sau indirectă pe care au avut-o la săvârșirea acestei teze.*

*În final, aș dori să le mulțumesc celor mai dragi persoane din viața mea, membrilor familiei mele, pentru iubire necondiționată și sprijin de neprețuit. Nu în ultimul rând, doresc să îi mulțumesc logodnicului meu, **Teodor**, pentru răbdare, încredere și susținere nemărginite.*

CUPRINS

Listă de abrevieri	1
INTRODUCERE	5
Capitolul 1 Polisulfone – relația structură-proprietăți-aplicații	9
1.1. Generalități	9
1.2. Sinteza poliarietersulfonelor	10
1.3. Proprietățile poliarietersulfonelor	11
1.3.1. Proprietăți fizice, termice și mecanice	11
1.3.2. Rezistență chimică și stabilitate hidrolitică	14
1.3.3. Proprietăți electrice și ignifuge	14
1.3.4. Solubilitate	15
1.3.5. Rezistența la radiații	15
1.4. Aplicații ale poliarietersulfonelor	15
1.5. Modalități de funcționalizare a structurii polisulfonei	16
1.5.1. Reacția de clorometilare	17
1.5.2. Funcționalizarea PSFCM prin cuaternizare	24
1.5.3. Reacția de sulfonare	30
1.6. Aplicații ale polisulfonelor în domeniul biomedical	35
1.6.1. Utilizarea polisulfonelor în domeniul biomedical vs. industrie	35
1.6.2. Membrane pe bază de polisulfonă pentru dispozitive extracorporale	36
1.6.2.1. Membrane pentru hemodializă	37
1.6.2.2. Membrane pentru oxigenare extracorporală	39
1.6.3. Implanturi osoase	40
1.6.4. Pansamente pentru tratarea rănilor	42
1.6.5. Nanoparticule de polisulfonă pentru imagistică medicală	43
1.6.6. Sisteme de eliberare controlată a agenților terapeutici	44
1.7. Concluzii	46
Capitolul 2	47
Funcționalizarea polisulfonei cu grupe ionice pentru aplicații biomedicale	47
2.1 Derivați ionici de polisulfonă: sinteză, parametri de solubilitate și comportamentul în soluție	47
2.1.1. Introducere	47
2.1.2. Rezultate și discuții	50
2.1.2.1. Sinteza și caracterizarea structurală a derivaților de polisulfonă	50
2.1.2.2. Caracterizarea din punct de vedere a stabilității termice a polisulfonelor funcționalizate	64
2.1.2.3. Aproximări teoretice și experimentale aplicate în evaluarea solubilității polisulfonelor funcționalizate	66
2.1.2.4. Comportamentul polisulfonelor cu sarcini ionice în soluție	81
2.1.3. Concluzii	90
2.2. Polisulfone cuaternizate ca matrice pentru dezvoltarea de acoperiri antimicrobiene cu spectru larg pentru dispozitive medicale	93
2.2.1. Introducere	93

2.2.2. Rezultate și discuții	96
2.2.2.1. Caracterizare structurală.....	96
2.2.2.2. Caracterizare morfologică	102
2.2.2.3. Caracterizarea supramoleculară.....	103
2.2.2.4. Proprietăți de suprafață.....	104
2.2.2.5. Cinetica de eliberare a NFX și AmB din matricea polimerică.....	107
2.2.2.6. Activitate antioxidantă	110
2.2.2.7. Activitate antimicrobiană	111
2.2.3. Concluzii.....	114
Capitolul 3 Sisteme dinamice de eliberare controlată pe bază de polisulfonă formulată și amfotericină B pentru tratamentul onicomicozelor	115
3.1. Introducere.....	115
3.2. Rezultate și discuții.....	118
3.2.1. Sinteza și caracterizarea structurală a polisulfonei formulate și a derivaților iminici de polisulfonă formulată	118
3.2.1.1. Caracterizarea structurală a polisulfonei formulate (PSFF-1)	119
3.2.1.2. Caracterizarea structurală a sistemelor de eliberare a amfotericinei B	121
3.2.2. Analiza termogravimetrică.....	124
3.2.3. Analiza morfologică la nivel micro- și nanometric utilizând SEM și AFM.....	125
3.2.4. Caracterizarea supramoleculară prin WAXD și POM.....	127
3.2.5. Comportamentul sistemelor de eliberare controlată în mediul umed	128
3.2.6. Cinetica de eliberare a medicamentului	129
3.2.7. Evaluarea activității antifungice prin metoda Kirby Bauer	132
3.2.8. Testarea biocompatibilității in vitro pe fibroblaste prin metoda MTS.....	133
3.3. Concluzii.....	136
Capitolul 4 Materiale bioactive pe bază de chitosan și polisulfonă obținute prin legături covalente de tip imină și amină.....	137
4.1. Introducere.....	137
4.2. Rezultate și discuții.....	140
4.2.1. Sinteza și caracterizarea structurală a materialelor pe bază de polisulfonă și chitosan	140
4.2.1.1. Modificarea chimică a polisulfonei prin clorometilare și eterificare	141
4.2.1.2. Caracterizarea structurală a materialelor pe bază de polisulfonă și chitosan	145
4.2.2. Investigații termice și morfologice.....	148
4.2.3. Comportamentul materialelor în mediu umed.....	158
4.2.3.1. Umectabilitatea și energia liberă de suprafață	158
4.2.3.2. Capacitatea de umflare în PBS	159
4.2.3.3. Comportamentul de sorbție/desorbție a apei	161
4.2.3.4. Viteza de transmitere a vaporilor de apă (WVTR)	164
4.2.4. Proprietăți biologice	165
4.2.4.1. Degradarea enzimatică	165
4.2.4.2. Activitatea antioxidantă.....	166
4.2.4.3. Activitatea antimicrobiană	167
4.2.4.4. Proprietăți hemostatice	168

4.3. Concluzii.....	172
Capitolul 5 Partea experimentală	173
5.1. Materiale.....	173
5.2. Echipamente și metode	174
5.3. Sinteză și obținere.....	181
5.3.1. Sinteza derivaților de polisulfonă.....	181
5.3.1.1. Sinteza polisulfonelelor clorometilate	181
5.3.1.2. Sinteza polisulfonei cuaternizate	182
5.3.1.3. Sinteza polisulfonei sulfonate.....	183
5.3.1.4. Sinteza polisulfonei formilate.....	185
5.3.2. Obținerea filmelor de PSFQ sau PSFS.....	186
5.3.3. Obținerea acoperirilor pe bază de polisulfonă cuaternizată și agenți antimicrobieni	186
5.3.4. Obținerea de formulări pe bază de polisulfonă formilată și amfotericină B	187
5.3.5. Sinteza materialelor pe bază de polisulfonă-chitosan.....	188
5.3.5.1. Grefarea chitosanului pe suprafața materialelor pe bază de polisulfonă formilată.....	188
5.3.5.2. Grefarea polisulfonei formilate pe suprafața materialelor pe bază de chitosan	188
5.3.5.3. Sinteza în masă a materialelor de polisulfonă-imino-chitosan	188
5.3.5.4. Aminarea reductivă a materialelor de polisulfonă-imino-chitosan.....	189
CONCLUZII GENERALE.....	191
Bibliografie.....	201
Anexe	243
Caracterizarea structurală prin spectroscopie RMN a derivaților de polisulfonă	243
Influența temperaturii asupra comportamentului în soluție al polisulfonelor ionice	253
Caracterizarea sistemelor pe bază de polisulfonă cuaternizată, NFX și AmB	254
Caracterizare structurală	254
Cinetica de eliberare a NFX și AmB din matricea polimerică	255
Activitatea antimicrobiană a probelor investigate.....	256
Caracterizarea materialelor bioactive pe bază de chitosan și polisulfonă obținute prin legături covalente de tip imină și amină.....	257

INTRODUCERE

Polisulfonele reprezintă o clasă de polimeri termoplastici de înaltă performanță cu proprietăți remarcabile. Ele se disting printr-o stabilitate termică excelentă, menținându-și integritatea structurală și performanța chiar și la temperaturi ridicate, aspect esențial pentru procese precum sterilizarea prin autoclavare, indispensabilă în domeniul medical. Pe lângă aceasta, polisulfonele prezintă stabilitate chimică remarcabilă, care le conferă rezistență la o varietate de acizi, baze și solvenți, asigurând durabilitatea materialului în prezența fluidelor biologice sau a soluțiilor dezinfectante. Mai mult, polisulfonele se remarcă prin rezistență mecanică superioară și biocompatibilitate intrinsecă. Aceasta din urmă este o proprietate fundamentală, care indică faptul că materialul nu provoacă reacții adverse sau toxice prin interacțiunea cu țesuturile vii sau cu sângele.

Datorită acestor caracteristici excepționale, polisulfonele sunt frecvent utilizate în domenii diverse ale ingineriei biomedicale. Una dintre cele mai importante aplicații ale acestui polimer constă în fabricarea membranelor pentru dializă și oxigenare a sângelui. În dializoare, structura poroasă controlată a polisulfonelor permite filtrarea eficientă a toxinelor din sânge, în timp ce în oxigenatoarele de sânge facilitează schimbul de gaze, ambele procese fiind vitale pentru susținerea vieții. În plus, datorită rezistenței mecanice și capacității de a fi sterilizate în mod repetat, polisulfonele sunt materiale optime în procesele de fabricare a componentelor instrumentarului chirurgical, cum ar fi mânerul sau carcasa, asigurând durabilitate și respectarea standardelor stricte de igienă. De asemenea, polisulfonele sunt studiate în domeniul ingineriei tisulare pentru a crea structuri de suport (schele) tridimensionale, care asigură o matrice stabilă și compatibilă pentru creșterea și diferențierea celulelor.

Deși polisulfonele prezintă un potențial aplicativ considerabil, în special ca biomateriale în diverse dispozitive și tehnici medicale, cercetările dedicate aprofundării proprietăților și a noilor utilizări ale acestor polimeri în context biologic sunt limitate. Această lacună în literatura de specialitate și în studiile de profil indică o oportunitate semnificativă pentru investigații ulterioare. Prin urmare, există un cadru favorabil și o nevoie clară pentru noi studii care să vizeze extinderea cercetărilor fundamentale și aplicative în acest domeniu.

Din acest motiv, prezenta teză urmărește să aducă contribuții în aplicabilitatea materialelor polisulfonice în sfera biomedicală, având în vedere trei obiective majore:

- Generarea unui cadru fundamental pentru înțelegerea influenței structurii polisulfonelor asupra proprietăților acestora, prin investigarea comportamentului lor în soluție, cu scopul de a obține informații utile privind prepararea de acoperiri pentru dispozitive medicale;
- Dezvoltarea de sisteme de eliberare a medicamentelor pe bază de derivați de polisulfonă;
- Îmbunătățirea proprietăților polisulfonelor prin funcționalizare cu un biopolimer, chitosan, și evaluarea impactului chimiei, a procedurii de obținere sau al naturii materialului asupra performanței.

Importanța tezei de doctorat constă în potențialul cercetărilor întreprinse, având drept scop **creșterea eficacității terapeutice prin administrare locală** (prin eliberarea controlată și țintită, medicamentul ajunge la țesutul vizat în concentrația optimă, minimizând efectele secundare sistemice), **reducerea frecvenței administrării** (sistemele cu eliberare susținută pot

diminua necesitatea administrării repetate a dozelor) și *dezvoltarea de materiale multifuncționale* (prin utilizarea unor componente care să prezinte activități complementare, de exemplu antimicrobiană și antioxidantă).

Astfel, noutatea prezentei teze constă atât în explorarea modalităților de funcționalizare a structurii polisulfonei, cât și în designul rațional și multifuncțional al sistemelor obținute, oferind diferite strategii de control a proprietăților materialului (biocompatibilitate, activitate antimicrobiană cu spectru larg, eliberare controlată de medicamente, activitate antioxidantă, proprietăți hemostatice), adaptându-le la cerințele specifice din domeniul biomedical.

Teza de doctorat intitulată „**Materiale polisulfonice cu proprietăți biologice active**” a avut drept scop principal valorificarea și îmbunătățirea proprietăților polisulfonelor pentru a răspunde unor nevoi stringente din domeniul biomedical. În acest sens, polisulfona comercială a fost purificată și modificată chimic pentru a obține derivați de polisulfonă care să genereze materiale avansate cu proprietăți biologice active.

Teza de doctorat este împărțită în două secțiuni principale. Prima parte (**Capitolul 1**) cuprinde o trecere în revistă a literaturii de specialitate, iar cea de a doua parte (**Capitolele 2-5**) conține rezultatele contribuțiilor originale ale prezentei teze.

Capitolul 1 oferă o prezentare a literaturii de specialitate, detaliind stadiul actual al cercetărilor în domeniul polisulfonei și al materialelor obținute din acest polimer, cu accent pe proprietăți, modalități de funcționalizare chimică și aplicabilitate în sfera biomedicală.

Capitolul 2 este organizat în două subcapitole reprezentate de două studii distincte și în același timp interconectate. Ambele subcapitole debutează cu o scurtă introducere în care este evidențiat raționamentul care a stat la baza studiilor și respectiv o justificare privind noutatea adusă domeniului. *Primul subcapitol* vizează investigarea relației structură-proprietăți-procesare a doi derivați de polisulfonă, polisulfona cuaternizată și polisulfona sulfonată, cu scopul de a proiecta sisteme funcționale, adaptate pentru aplicarea ca acoperiri pentru dispozitive medicale. În prezentul studiu, parametrul de solubilitate al polimerilor a fost determinat printr-o abordare teoretică, bazată pe metoda contribuției de grup, și o abordare experimentală, bazată pe măsurători viscozimetrice ale soluțiilor de polielectroliti în patru solvenți diferiți. Ulterior, compatibilitatea polisulfonelor funcționalizate cu diverși solvenți sau amestecuri de solvenți a fost evaluată pe baza teoriei sferei Hansen, urmată de investigarea comportamentului acestor derivați de polisulfonă în DMF – solventul cu cea mai bună compatibilitate. Viscositatea lor intrinsecă, volumul hidrodinamic specific redus, densitatea ghemului macromolecular și parametrul B au fost analizați și comparați, oferind informații despre conformația lor în soluție și interacțiunile acestora cu solventul.

Cel de-al doilea subcapitol folosește concluziile desprinse din primul studiu în prepararea unor acoperiri pentru instrumentar medical cu activitate duală: antibiotică și antifungică. În acest sens, solventul identificat ca fiind optim pentru polimerii sintetizați și studiați a fost folosit pentru prepararea unor soluții de polisulfonă cuaternizată, cu scopul de a fi utilizată ca matrice de încapsulare a doi agenți antimicrobieni: norfloxacină, un antibiotic cu spectru larg, și amfotericină B, un medicament antifungic. Sistemele au fost caracterizate din punct de vedere structural, morfologic, supramolecular, iar proprietățile lor (umectabilitate, energie de suprafață, activitate antioxidantă și antimicrobiană) au fost de asemenea investigate. Nu în ultimul rând, a fost monitorizată cinetica de eliberare a norfloxacinei din sistemele obținute. Rezultatele înregistrate au confirmat designul teoretic care a stat la baza preparării acestor acoperiri, evidențiind

potențialul polisulfonei cuaternizate de a fi utilizată ca matrice de încapsulare a agenților antimicrobieni, obținându-se astfel materiale care pot fi aplicate pe suprafața dispozitivelor medicale pentru a preveni eficient infecțiile la nivelul situsului chirurgical.

Capitolul 3 a avut drept obiectiv dezvoltarea unor sisteme de eliberare controlată a medicamentelor prin grefarea unui agent antifungic, amfotericina B, pe catena laterală a polisulfonei formulate. Reacția dintre polimer și medicament a fost realizată utilizând diferite rapoarte ale funcționalităților lor, aldehydă și respectiv amină, conducând astfel la obținerea de patru derivați iminici de polisulfonă, care ulterior au fost amestecați fizic cu poli(etilenglicol), un polimer deseori utilizat în formulări biologice active, pentru a obține soluții vâscoase cu o capacitate superioară de filmare. Sistemele au fost caracterizate din punct de vedere structural, termic, supramolecular, morfologic și topografic. Deoarece scopul vizat a constat în utilizarea filmelor obținute în tratamentul onicomicozelor, sub formă de lac de unghii, a fost evaluată o serie de proprietăți, precum: capacitatea de eliberare susținută a amfotericinei B, umectabilitatea și stabilitatea hidrolitică, activitatea antifungică pe diverse tulpini de *Candida* și pe *Saccharomyces cerevisiae* și biocompatibilitatea pe fibroblaste dermice normale. Datorită activității antifungice eficiente, cât și a biocompatibilității, aceste sisteme prezintă potențial ridicat de a fi utilizate ca lacuri de unghii în tratamentul onicomicozelor.

Capitolul 4 descrie obținerea unor sisteme hibride de polisulfonă și chitosan prin reacții de iminare și aminare, la suprafață sau în masa, și caracterizarea exhaustivă a acestora din punct de vedere structural, morfologic, topografic, supramolecular și termic. În vederea stabilirii potențialului lor aplicativ, a fost investigat un spectru larg de proprietăți, precum: umectabilitatea și energia liberă de suprafață, capacitatea de umflare în PBS, biodegradarea enzimatică în prezență de lizozimă, capacitatea de transport a vaporilor de apă, activitatea antioxidantă și antimicrobiană, precum și efectul hemostatic. Rezultatele sugerează că materialele pe bază de chitosan și polisulfonă, legate prin unități de tip imină sau amină, reprezintă o abordare promițătoare pentru dezvoltarea de biomateriale cu proprietăți îmbunătățite pentru aplicații biomedicale.

Teza se încheie cu **Capitolul 5**, care cuprinde suportul experimental pe care se bazează rezultatele obținute: solvenții și reactivii utilizați pentru sinteza compușilor prezentați în teză, procedurile de sinteză, precum și metodele și aparatele folosite pentru caracterizarea acestora.

Teza include, de asemenea, o listă a rezultatelor diseminate pe parcursul stagiului de doctorat: articolele științifice publicate sau în curs de publicare și participările la manifestări științifice. Teza se încheie cu referințele bibliografice consultate în elaborarea tezei.

2.1. Derivați ionici de polisulfonă: sinteză, parametrii de solubilitate și comportamentul în soluție

2.1.1. Introducere

Polisulfonele și derivații lor reprezintă o clasă importantă de polimeri care se remarcă prin structura și proprietățile lor fizico-chimice superioare (stabilitate termică și chimică, rezistență mecanică, proprietăți pelliculogene) [1, 2]. Introducerea grupărilor funcționale în structura polimerului reprezintă o modalitate optimă de a îmbunătăți proprietățile și a extinde aplicabilitatea acestuia [3]. Printre numeroasele modalități de modificare chimică a structurii polisulfonelor se remarcă reacțiile de clorometilare, cuaternizare și sulfonare, care au un impact pozitiv asupra caracteristicilor polimerului, precum reactivitatea, solubilitatea, flexibilitatea și hidrofilicitatea acestuia. Mai mult, reacțiile de cuaternizare și sulfonare a polisulfonelor reprezintă o metodă eficientă de obținere a polimerilor ionici (polielectroliti), o clasă de compuși chimici de mare interes în diverse domenii științifice datorită proprietăților lor fizice și chimice [4]. Prezentul studiu adoptă o abordare atât teoretică cât și experimentală pentru a investiga relația structură-proprietăți-procesare a doi derivați ionici ai polisulfonei, **PSFQ** și **PSFS**, cu scopul de a proiecta materiale pentru aplicații biomedicale. Pentru prima dată, parametrii de solubilitate ai acestor doi polimeri au fost determinați printr-o metodologie duală: o abordare teoretică bazată pe metoda contribuției de grup și o abordare experimentală bazată pe măsurători viscozimetrice ale soluțiilor de polielectroliti în patru solvenți diferiți. Ulterior, compatibilitatea lor cu diverși solvenți sau amestecuri de solvenți a fost evaluată pe baza teoriei sferei Hansen. După selecția solvenților, studiul s-a concentrat pe investigarea comportamentului hidrodinamic al acestor polisulfone ionice. Viscositatea lor intrinsecă, volumul hidrodinamic specific redus, densitatea ghemului macromolecular și parametrul hidrodinamic de interacțiune B au fost discutați și comparați, oferind informații despre conformația lor în soluție și interacțiunile acestora. Noutatea acestui studiu constă în stabilirea unei metodologii raționale și transferabile pentru selectarea solvenților compatibili cu cele două polisulfone ionice, susținută atât de predicții teoretice, cât și de validare experimentală. Pe lângă faptul că acest studiu oferă informații despre comportamentul în soluție al **PSFQ** și **PSFS**, acesta oferă și cadrul pentru dezvoltarea materialelor pe bază de polisulfonă, facilitând optimizarea proprietăților materialelor încă din etapa de proiectare, prin alegerea strategică a solventului, înainte de fabricare.

2.1.2. Rezultate și discuții

O etapă premergătoare în sinteza derivatului de polisulfonă cu grupări cuaternare de amoniu constă în reacția de clorometilare a polisulfonei cu un amestec echimolar de paraformaldehidă și trimetilclorosilan. Succesul reacției de clorometilare a fost demonstrat prin spectroscopie FTIR, ^1H -RMN și ^{13}C -RMN. În spectrul ^1H -RMN (Figura 2.3.) al **PSFCM**, alături de semnalele caracteristice protonilor din nucleeele aromatice ale polisulfonei substituite (7,87-6,83 ppm) și de semnalul protonilor din izopropil ai fragmentului de bisfenol (1,70 ppm), apare un semnal la $\delta = 4,54$ ppm atribuit celor doi protoni ai grupării $-\text{CH}_2\text{Cl}$.

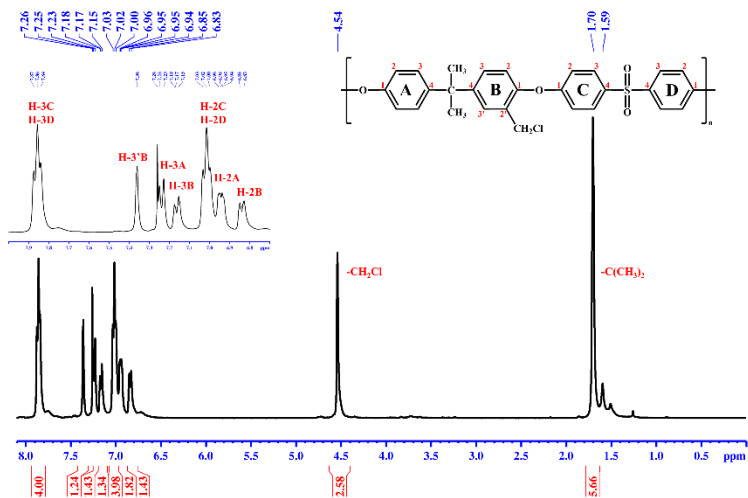


Figura 2.3. Spectrul ^1H -RMN al derivatului **PSFCM-5**

Introducerea grupărilor cuaternare de amoniu în structura polisulfonei a avut loc prin reacția dintre grupele reactive clorometilenice ($-\text{CH}_2\text{Cl}$) de pe lanțul de polisulfonă și agentul de cuaternizare, *N,N*-dimetilbutilamina (DMBA), într-un raport molar de 1:1,2. Funcționalizarea **PSF** cu clorura de dimetilbutilamoniu a fost demonstrată clar prin apariția în spectrul ^1H -RMN al **PSFQ** a semnalelor de la 3,28, 3,03-2,99, 1,18-1,13, 1,67 (suprapus cu semnalul pentru $-\text{C}(\text{CH}_3)_2$ din bisfenol) și 0,86-0,81 ppm, care corespund protonilor din această grupare funcțională. De asemenea, legarea chimică a grupării dimetilbutilamoniu de polisulfonă prin intermediul grupării metilenice este evidențiat și în spectrul ^1H , ^{13}C -HMBC (Figura 2.9.) al **PSFQ** prin prezența semnalelor de corelație peste două sau trei legături dintre atomul de carbon C-5 al grupării metilenice, localizat la 61,2-61 ppm, și protonul H-3'B din bisfenol A, precum și cu protonii H-10 din fragmentul de dimetilbutilamoniu.

Au fost obținuți derivați de polisulfonă sulfonată (**PSFS**) cu diferite grade de substituție, prin sulfonarea directă a polisulfonei Udel, utilizând ca agenți de sulfonare **acidul clorosulfonic** sau **un amestec de acid clorosulfonic și trimetilclorosilan**, precum și variind diferite condiții de reacție (concentrația agentului de sulfonare, temperatura sau raportul molar dintre PSF și agentul de sulfonare). Călea de sinteză care a utilizat o concentrație crescută de acid clorosulfonic a generat randamentul cel mai bun, conducând la obținerea unui derivat sulfonat de polisulfonă cu un grad de substituție de 0,63, iar experimentele realizate în următoarele studii au fost efectuate pe acest derivat. Polisulfona sulfonată a fost caracterizată din punct de vedere structural prin intermediul spectroscopiei FTIR, ^1H -RMN și ^{13}C -RMN.

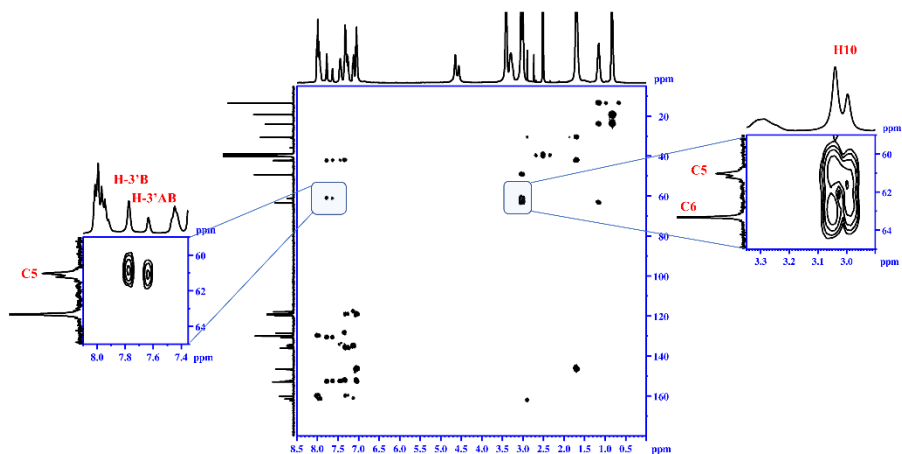


Figura 2.9. Spectrul $^1\text{H},^{13}\text{C}$ -HMBC pentru PSFQ cu evidențierea semnalelor de corelație dintre substituent și polisulfonă

Relația dintre structura și stabilitatea termică a polisulfonei nemodificate (PSF) și a polisulfonelor funcționalizate (PSFCM, PSFQ și PSFS) a fost investigată utilizând analiza termogravimetrică (ATG). Conform curbelor termogravimetrice redată în Figura 2.14., stabilitatea termică a polimerilor studiați scade în următoarea ordine: **PSF>PSFCM>PSFS>PSFQ**, aspect care sugerează că modificarea chimică a polisulfonei cu grupări laterale voluminoase conduce la derivați mai susceptibili la degradare termică, aceste grupări funcționale având efect de spațiator între lanțurile macromoleculare și perturbând forțele intermoleculare dintre acestea.

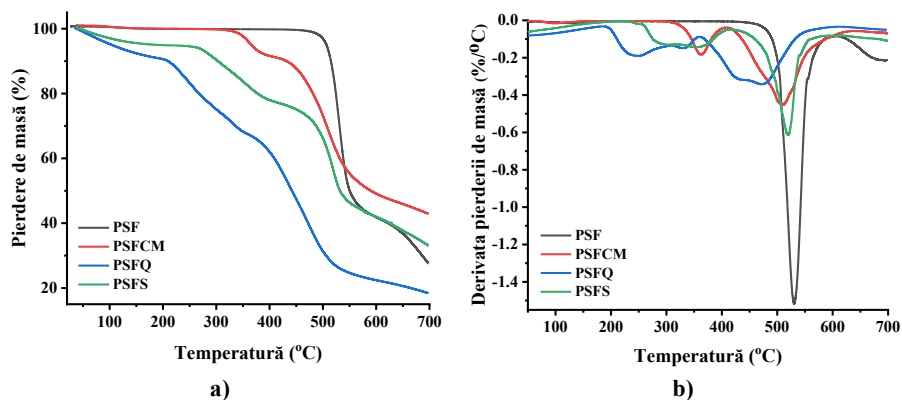


Figura 2.14. Curbele a) TG și b) DTG înregistrate pentru polisulfona nemodificată și polisulfonele funcționalizate cu grupările: clorometil (PSFCM), clorură de dimetilbutilamoniu (PSFQ) și SO_3H (PSFS)

Pentru o clasificare mai exactă a solvenților și a amestecurilor de solvenți investigați în acest studiu, componentele parametrilor de solubilitate Hansen ai polisulfonelor funcționalizate, determinate utilizând **metoda îmbunătățită a contribuțiilor de grup**, au fost corelate cu componentele parametrilor de solubilitate Hansen ai solvenților analizați, conform **teoriei sferei de solubilitate Hansen** (Figura 2.15.). Metodele teoretice de estimare a parametrului de solubilitate a polisulfonei cuaternizate și sulfonate au evidențiat că cei doi polimeri prezintă valori apropiate cu cele ale solvenților DMSO, DMAc, DMF și NMP, motiv pentru care aceștia pot fi considerați solvenți buni din punct de vedere termodinamic pentru polisulfonele funcționalizate. Totuși, viscozitatea intrinsecă, $[\eta]$, a acestora a prezentat cele mai mari valori atunci când polimerii au fost dizolvați în DMF ceea ce denotă că acest solvent induce o creștere a dimensiunilor hidrodinamice ale **PSFQ** și **PSFS**, așa cum susține teoria lui Flory [5]. Mai mult, analizând topografia filmelor polimerice obținute prin solubilizarea polimerilor în cei patru solvenți identificați ca fiind cei mai compatibili cu polisulfonele funcționalizate, a fost observat faptul că filmele preparate utilizând DMF ca solvent prezintă o suprafață mai netedă, înregistrându-se valori mai mici ale rugozității medii (S_a) și rugozității medii pătratic (S_q). Astfel, analizând rezultatele studiilor teoretice și experimentale prezentate în acest capitol, se poate concluziona că *N,N*-dimetilformamida este solventul optim pentru polisulfonele cuaternizate și sulfonate, motiv pentru care următoarele studii au fost realizate utilizând acest solvent.

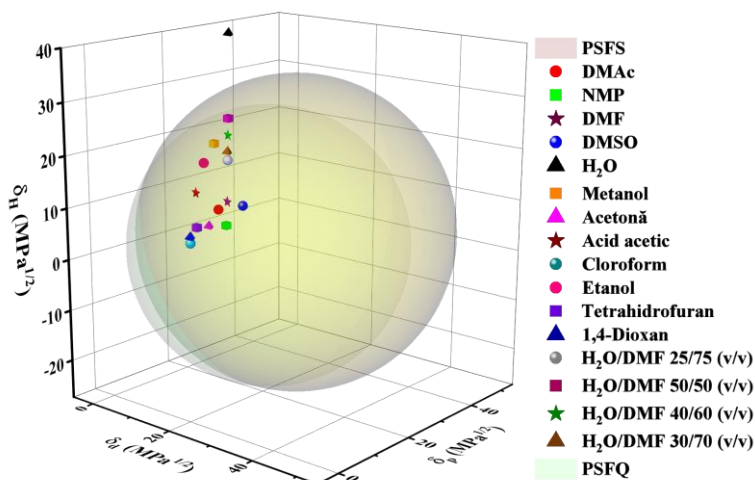


Figura 2.15. Reprezentarea 3D a parametrilor parțiali de solubilitate corespunzători forțelor de dispersie (δ_d), polare (δ_p) și legăturilor de hidrogen (δ_h), conform teoriei sferei de solubilitate a lui Hansen, pentru polisulfonele studiate în diferiți solvenți/amestecuri de solvenți

Metoda experimentală prin intermediul căreia a fost discutat comportamentul și proprietățile în soluție ale polimerilor sintetizați a fost viscozimetria. Din multitudinea ecuațiilor existente în literatură pentru determinarea viscozității intrinseci, $[\eta]$, cea mai comună metodă este cea propusă de Huggins [6]. Dependența η_{sp}/c în funcție de concentrația polimerului indică faptul că polisulfonele modificate chimic, **PSFQ** și **PSFS**, prezintă un comportament specific de polielectrolit în soluție diluată, ca urmare a repulsiilor Coulombice între grupările cu sarcină localizată (Figura 2.21.). Astfel, viscozitatea redusă crește pe măsură ce concentrația polimerului scade datorită creșterii dimensiunii ghemului macromolecular.

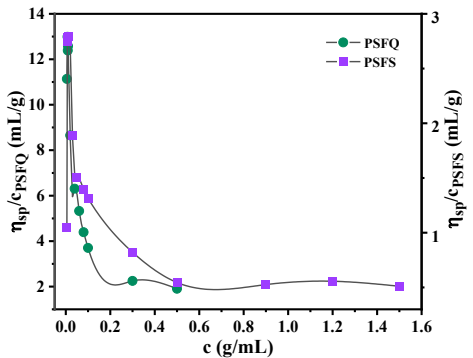


Figura 2.21. Graficul Huggins pentru **PSFQ** și **PSFS** în DMF la 25 °C

Din cauza imposibilității evaluării viscozității intrinseci prin extrapolare la concentrație infinită de polimer, valorile acestui parametru al **PSFQ** și **PSFS** au fost determinate aplicând metoda Wolf [7]. Figura 2.22. ilustrează creșterea progresivă a valorilor viscozității relative odată cu creșterea concentrației soluției de polimer pe întreg domeniul de temperatură. Pe măsură ce concentrația crește diferențele devin mai pronunțate, datorită faptului că numărul tot mai mare de molecule de polielectrolit mărește puterea ionică a soluției și se stabilesc efectele interacțiunilor Coulombice.

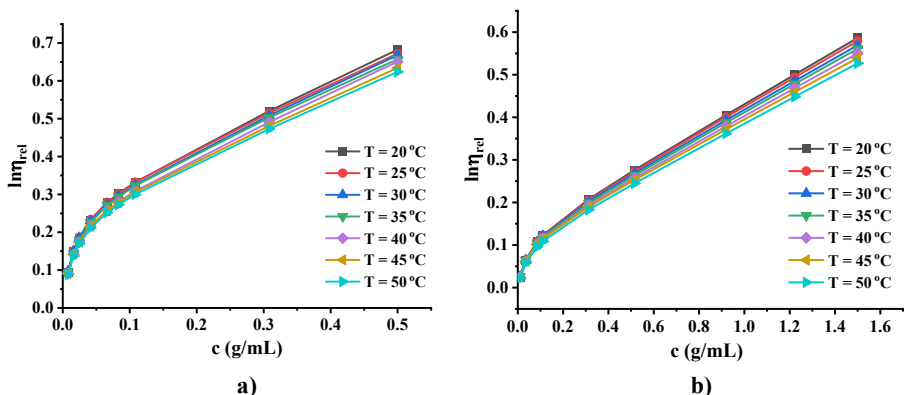


Figura 2.22. Dependenta $\ln \eta_{rel}$ de concentrația polimerului, c , pentru soluțiile de a) **PSFQ** și b) **PSFS** în DMF, în intervalul de temperatură 20÷50 °C

Pentru a aprofunda interpretarea comportamentului viscozimetric în soluții diluate a polisulfonelor funcționalizat au fost investigați și alți parametri hidrodinamici, precum volumul hidrodinamic specific redus, $\{\eta\}/[\eta]$, care oferă informații despre modificările volumului hidrodinamic al unui lanț macromolecular induse de prezența altor lanțuri macromoleculare în apropiere. Reprezentarea grafică a dependenței $\{\eta\}/[\eta]$ de $c[\eta]$ a **PSFQ** și

PSFS indică o scădere a volumului hidrodinamic specific al polimerilor în DMF odată cu creșterea concentrației reduse de polimer, pe întreg domeniul studiat (Figura 2.23.). Acest comportament a fost corelat cu influența densității sarcinii și disocierii contraionilor asupra conformației lanțurilor de polielectroliti. Astfel, la diluție mare, contraionii sunt departe de poliion, iar lanțurile devin mai extinse datorită forțelor ionice de repulsie dintre grupările încărcate ale macroionului. Conform acestei abordări, pe măsură ce concentrația de polimer crește, ghemul de polielectrolit se micșorează din cauza ecranării progresive a sarcinilor.

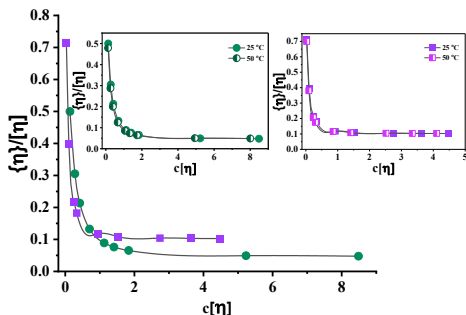


Figura 2.23. Variația volumului hidrodinamic specific redus ($\{\eta\}/[\eta]$) în funcție de concentrația redusă ($c[\eta]$) pentru polimerii **PSFQ** (●) și **PSFS** (■), la 25 °C. Imaginile inserate prezintă aceleași variații la temperaturi diferite

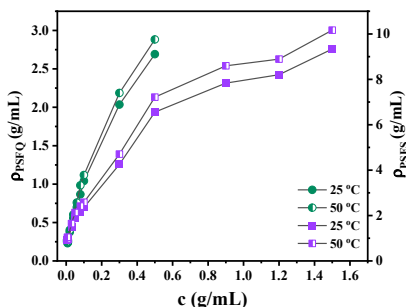


Figura 2.24. Variația densității ghemului macromolecular în funcție de concentrația polimerului pentru probele **PSFQ** (●) și **PSFS** (■) în DMF la 25 °C și 50 °C

Variația volumului hidrodinamic specific redus în funcție de concentrația redusă a polimerului poate fi corelată cu variația densității (ρ) ghemului macromolecular în funcție de concentrație (Figura 2.24.). Pe măsură ce concentrația de polimer crește, ghemul de polielectrolit se micșorează din cauza ecranării progresive a sarcinilor și creșterii interacțiunilor intramoleculare. Din acest motiv, densitatea ghemului macromolecular atât în cazul **PSFQ**, cât și în cazul **PSFS** crește lent odată cu creșterea concentrației de polimer. Totuși, putem observa că valorile acestei dimensiuni hidrodinamice în cazul **PSFS** sunt mai mari decât cele ale **PSFQ**, fapt ce sugerează că DMF este un solvent termodinamic mai puțin bun pentru **PSFS** decât pentru **PSFQ**, expansiunea lanțului macromolecular indusă de solvent fiind mai puțin pronunțată [8].

2.2. Polisulfone cuaternizate ca matrice pentru dezvoltarea de acoperiri antimicrobiene cu spectru larg pentru dispozitive medicale

2.2.1. Introducere

În ultimele decenii, dispozitivele medicale, în special cele pentru diagnosticarea, monitorizarea și tratamentul leziunilor sau al bolilor, au adus o contribuție remarcabilă la îmbunătățirea și creșterea speranței de viață a oamenilor din întreaga lume [9, 10]. Totuși, utilizarea acestora reprezintă totodată și un mijloc de transmitere a infecțiilor nosocomiale, care pun în pericol sănătatea și în unele cazuri, viața pacienților [11, 12]. Dezvoltarea unor acoperiri

care pot fi aplicate cu ușurință pe suprafața dispozitivelor medicale și care previn aderența și creșterea bacteriilor, fără a afecta țesutul cu care vin în contact, reprezintă o soluție promițătoare care poate preveni apariția infecțiilor și îmbunătăți calitatea vieții pacienților. În acest context, pentru a aborda provocările persistente generate de infecțiile asociate dispozitivelor medicale, în special în mediile clinice și chirurgicale, ipoteza de lucru a acestui studiu a fost formulată în direcția dezvoltării de acoperiri care nu doar inhibă creșterea bacteriilor și fungilor, ci și elimină activ aceste microorganisme. Având în vedere acest obiectiv, prezentul studiu explorează utilizarea polisulfonei cuaternizate ca matrice pentru încapsularea a doi agenți antimicrobieni: norfloxacină (NFX), un antibiotic chinolonic cu spectru larg, și amfotericina B (AmB), un medicament antifungic polienic. Această abordare își propune să creeze acoperiri cu proprietăți antibacteriene și antifungice îmbunătățite, special concepute pentru a preveni formarea biofilmului pe suprafețele dispozitivelor medicale. Acoperirile au fost proiectate pe baza unei strategii raționale, pe mai multe nivele, luând în considerare: (i) capacitatea chinolonelor de a spori eficacitatea AmB prin efecte sinergice, așa cum a fost demonstrat anterior în unele studii [13], (ii) structurile chimice ale polimerului și ale celor două medicamente care favorizează interacțiuni electrostatice puternice, capabile să susțină eliberarea controlată a medicamentelor, (iii) bioactivitățile complementare ale agenților antimicrobieni, NFX având efecte antibacteriene, iar AmB acțiune antifungică, combinarea lor în același material permite obținerea de acoperiri cu activitate antimicrobiană cu spectru larg și (iv) activitatea antimicrobiană inerentă a matricei de polisulfonă cuaternizată, cu potențialul de a inhiba eficient numeroase tulpini patogene, sporind astfel eficacitatea antimicrobiană generală a acoperirilor.

2.2.2. Rezultate și discuții

Analiza comparativă a spectrelor FTIR (Figura 2.28.) obținute pentru formulările care conțin medicamente, alături de componentele lor de referință (matricea polimerică și medicamentele individuale) a relevat ușoare variații atât în pozițiile benzilor de absorbție, cât și în intensitățile acestora. Astfel, banda largă din spectrul FTIR al probei **PSFQ**, localizată la 3395 cm^{-1} , se deplasează progresiv către numere de undă mai mici odată cu creșterea cantităților de medicamente încapsulate. Această tendință sugerează formarea unor interacțiuni intermoleculare puternice între matricea polimerică și medicamentele încapsulate.

Având în vedere structura chimică a medicamentelor încorporate, care conțin atât grupări carboxilice, cât și grupări hidroxil și amino primare în cazul AmB, dar și grupări cetone, amino secundare și terțiare și atomi de fluor

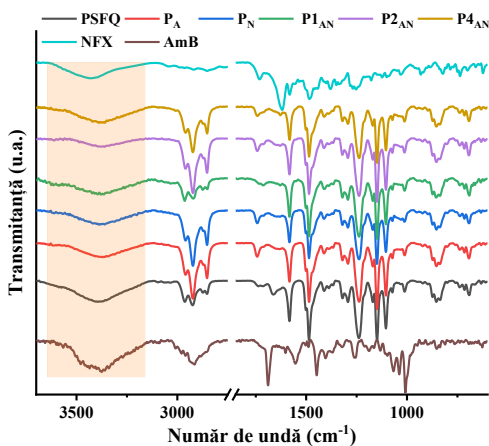


Figura 2.28. Spectrele FTIR ale acoperirilor investigate, precum și ale celor două medicamente

în cazul NFX, este plauzibil ca aceste interacțiuni să implice atât legături de hidrogen, cât și forțe electrostatice, care contribuie la deplasările spectrale observate.

Caracterizarea supramoleculară a formulărilor a fost realizată cu ajutorul difracției de raze X la unghi larg (Figura 2.31.). Difractogramele formulărilor sunt foarte asemănătoare cu cea a **PSFQ**, fără reflexii distincte de difracție specifice AmB sau NFX. Acest lucru sugerează că medicamentele au fost fin dispersate în matricea polimerică, probabil datorită interacțiunilor intermoleculare cu **PSFQ** care inhibă cristalizarea, cel puțin sub nivelul de detecție al acestei tehnici [14]. Cu toate acestea, a fost observată o deplasare ușoară a maximelor de difracție către unghiuri mai mari și în consecință distanțe intermoleculare mai mici, sugerând că prezența medicamentelor a promovat coalescența lanțurilor polimerice în domenii ordonate mai compacte. Acest efect este susținut de apariția unor domenii birefringente mai pronunțate sub lumină polarizată [15]. Lipsa benzilor de difracție clare caracteristice medicamentelor cristaline întărește ideea unei dispersări foarte fine a medicamentelor în matricea polimerică.

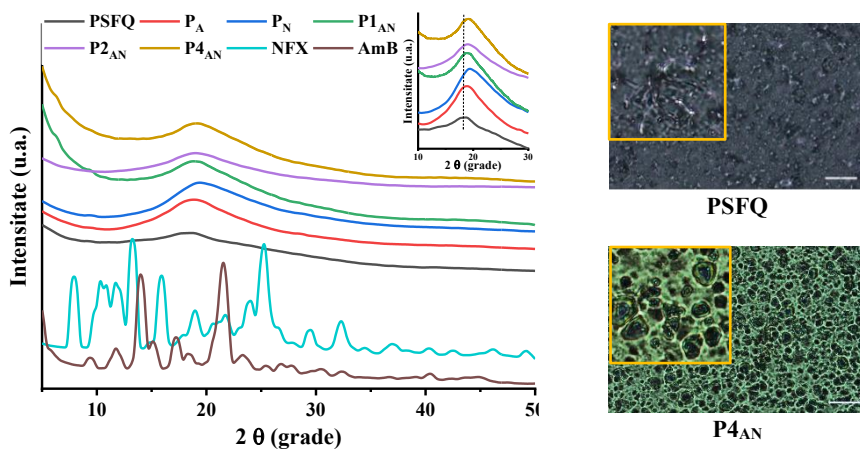


Figura 2.31. Difractogramele XRD ale acoperirilor **PA**, **PN**, **P1AN**, **P2AN**, **P4AN** și ale componentelor martor **PSFQ**, AmB și NFX și imaginile POM ale filmului de **PSFQ**, precum și ale probei care conține ambele medicamente (**P4AN**)

Suprafețele acoperirilor care conțin unul sau ambele medicamente au valori ale unghiului de contact cu apa în intervalul 60-90 °, asociate cu o bună biocompatibilitate. În plus, o umectabilitate moderată este crucială pentru o interacțiune optimă cu apa, facilitând eliberarea eficientă a medicamentului și creșterea biodisponibilității acestuia [16].

Cinetica de eliberare a medicamentelor a fost monitorizată *in vitro* în PBS (pH = 7,4). Probele au demonstrat o capacitate similară de a elibera NFX (între 75 % și 77 %) pe parcursul a 48 de ore, cu o eliberare mai rapidă în primele 4 ore (Figura 2.33. a, b). Viteza de eliberare a medicamentului a fost dependentă de cantitatea de agent antimicrobian din matrice. Astfel, proba **P4AN** a eliberat 69 % din medicamentul încapsulat în primele 4 ore, în timp ce probele **PN** și **P1AN** au eliberat doar ~51 %. Monitorizarea cineticii eliberării AmB din matricea polimerică nu a fost posibilă, concentrația supernatantului scăzând sub limita de detecție a spectrofotometrului UV-Vis. În urma fitării datelor experimentale de eliberare pe diferite modele matematice s-a

constatat că eliberarea NFX din matricea polimerică este un proces controlat de difuzie și influențat de cantitatea de medicament, timpul de expunere și hidrofilicitatea matricei.

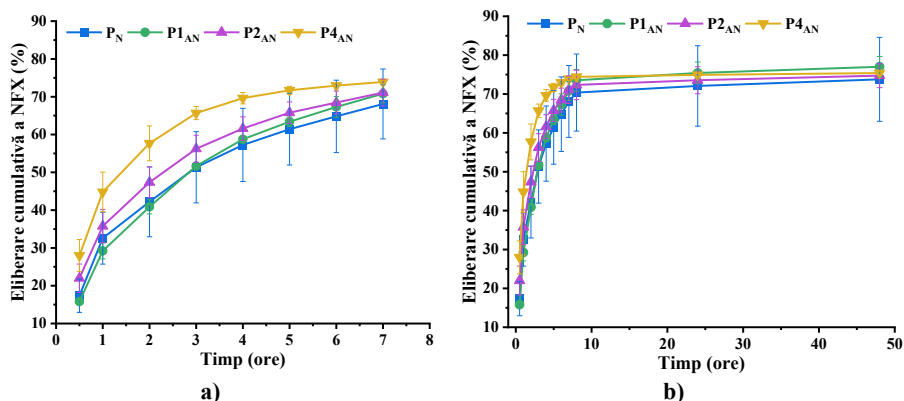


Figura 2.33. Cinetica de eliberare a NFX din probele P_N, P1_{AN}, P2_{AN} și P4_{AN} timp de a) 8 ore și b) 48 de ore

Capacitatea acoperirilor investigate de a capta speciile reactive de oxigen (ROS) a fost analizată prin metoda DPPH (Figura 2.34.). Activitatea antioxidantă a fost superioară în cazul probelor ce conțineau Amb și s-a amplificat odată cu creșterea concentrației acesteia, atingând un prag la 67,49 %. Probele care conțin ambele medicamente au prezentat o activitate antioxidantă mai mare în comparație cu cele care conțin un singur medicament la aceeași concentrație, indicând cumulearea efectelor lor. Cea mai mare activitate antioxidantă a fost observată în cazul probei P4_{AN}, 67,49 %, acest rezultat putând fi corelat cu efectul antioxidant aditiv al celor două medicamente dispersate în matricea polimerică.

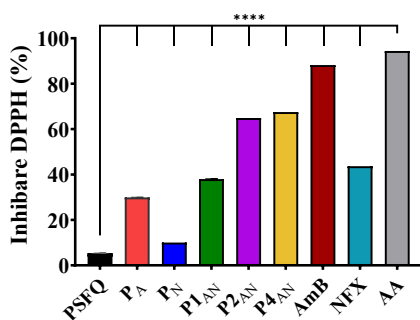


Figura 2.34. a) Activitatea antioxidantă a probelor investigate în acest studiu, alături de 3 probe de control (amfotericină B, norfloxacină și acid ascorbic-AA)

Având în vedere că scopul acestui studiu a constat în dezvoltarea de noi acoperiri antimicrobiene, eficacitatea formulărilor a fost investigată față de microorganisme asociate frecvent cu infecțiile nosocomiale, și anume *S. aureus* (bacterie Gram-pozitivă), *E. coli* (bacterie Gram-negativă) și *C. albicans* (microorganism oportunist) (Figura 2.36.). PSFQ a prezentat o eficacitate moderată împotriva *S. aureus* (diametru de inhibiție de până la 14 mm) și o activitate antibacteriană mai puternică față de *E. coli* (până la 23 mm), dar nu a manifestat activitate antifungică. Încapsularea Amb în proba P_A a indus activitate antifungică (diametru de inhibiție de până la 18 mm), însă nu a fost detectată nicio activitate antibacteriană. În schimb, încapsularea NFX în proba P_N a îmbunătățit semnificativ activitatea antibacteriană în comparație cu proba PSFQ, în concordanță cu eliberarea NFX observată. Când ambii agenți antimicrobieni au fost co-

încapsulați, acoperirile rezultate au prezentat o activitate antimicrobiană duală, cu diametre de inhibiție comparabile cu cele ale probelor **P_A** și **P_N**. Acest lucru confirmă că ambele medicamente au fost eliberate în concentrații suficiente pentru a exercita un efect inhibitor asupra dezvoltării microorganismelor.

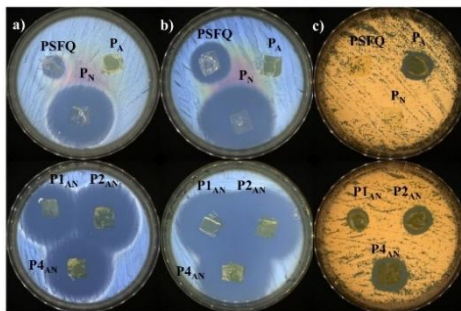


Figura 2.36. Activitatea antimicrobiană a probelor investigate față de: **a)** *S. aureus*, **b)** *E. coli* și **c)** *C. albicans*

Capitolul 3

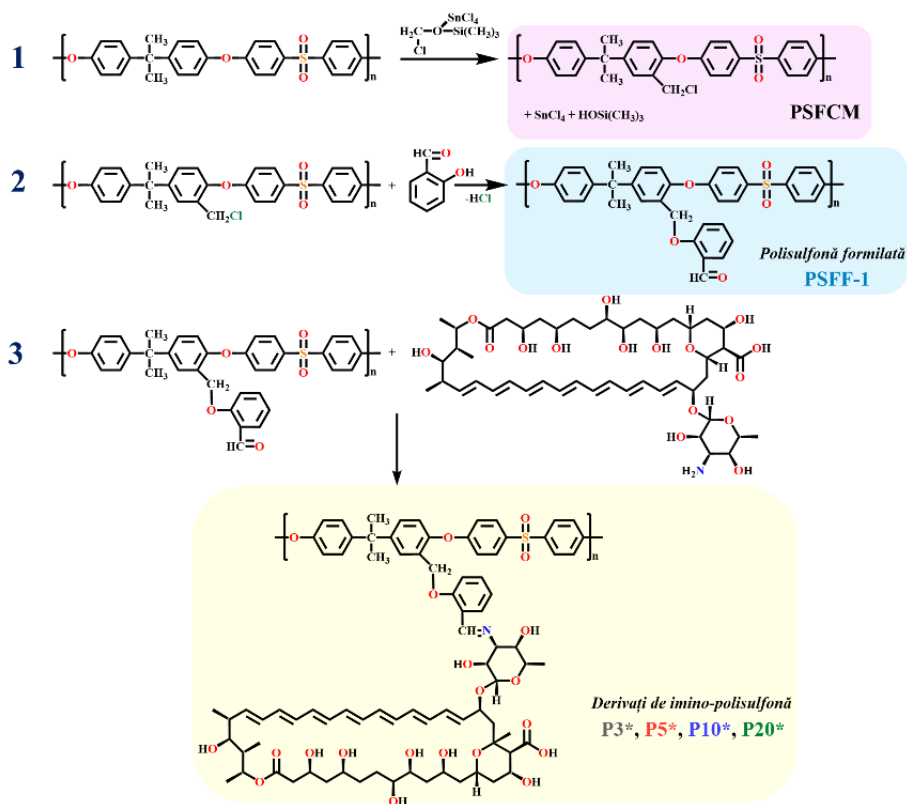
Sisteme dinamice de eliberare controlată pe bază de polisulfonă formilată și amfotericină B pentru tratamentul onicomicozelor

3.1. Introducere

Onicomicoza, termenul medical folosit pentru infecțiile unghiilor, este o afecțiune prevalentă, de obicei cauzată de fungi dermatofiți, ciuperci (cum ar fi speciile de *Candida*) și fungi non-dermatofiți [17]. Aceste microorganisme pătrund printr-o traumă minoră a unghiei sau cuticulei, dezvoltându-se ulterior datorită condițiilor favorabile de temperatură și umiditate. Ojele antifungice (cunoscute și sub denumirea de lacuri de unghii medicamentoase) reprezintă o opțiune cheie de tratament topic pentru onicomicoză, în special pentru infecțiile superficiale sau ca adjuvant la terapiile orale în cazuri mai severe [18]. Avantajul lor principal constă în administrarea directă a medicamentului la nivelul unghiei infectate, reducând la minimum efectele secundare sistemice asociate cu antifungicele orale. Totuși, tratamentul cu oă antifungică necesită răbdare și consecvență din cauza vitezei mici de creștere a unghiilor. Din acest motiv, dezvoltarea de oje cu rol de sistem de eliberare prelungită a medicamentelor este de interes, având atât funcție medicală, cât și estetică. Un profil de eliberare prelungit ar trebui să aducă avantaje importante, de la eficiență, la reducerea costului tratamentului [19]. Obiectivul acestui studiu a vizat crearea de legături imino reversibile între amfotericina B (AmB), un medicament antifungic cu grupări amino primare, și un derivat de polisulfonă formilată, cu scopul de a obține materiale dinamice care în condiții de umiditate, ar permite eliberarea controlată și susținută a medicamentului antifungic [20]. Un material obținut prin această abordare ar trebui să aibă performanțe superioare în comparație cu formulările în care medicamentul este încapsulat și prins într-o matrice polimerică doar prin interacțiuni fizice.

3.2. Rezultate și discuții

Pentru a obține materiale dinamice capabile să elibereze în mod susținut medicamentul antifungic AmB, polisulfona a fost modificată pentru a introduce grupări de tip aldehydă pe lanțul macromolecular (**PSFF-1**). În acest scop, polisulfona comercială, purificată în prealabil, a fost supusă clorometilării și ulterior eterificării Williamson (Schema 3.1.). Polisulfona cu grupări formil obținută, **PSFF-1**, a fost utilizată pentru grefarea agentului antifungic AmB prin reacția de condensare a grupărilor de tip aldehydă cu grupările de tip amină ale medicamentului, în diferite rapoarte molare ale funcționalităților lor, de la 3/1 la 20/1 (Tabelul 3.1.). Această cale sintetică a condus la obținerea unor derivați cu legături imino reversibile (**P3***, **P5***, **P10***, **P20***), care în prezența umidității se pot scinda, eliberând medicamentul. Cifra din codul probei semnifică raportul molar al funcționalităților CHO și NH₂ (Tabelul 3.1.). Pentru a îmbunătăți capacitatea de filmare a derivaților iminici de polisulfonă, în sistem a fost adăugat și PEG, iar sistemele rezultate au fost notate cu **P3**, **P5**, **P10**, **P20**.



Schema 3.1. Calea sintetică aplicată în acest studiu: **1)** clorometilarea polisulfonei, **2)** reacția de eterificare Williamson a polisulfonei clorometilate cu aldehida salicilică și **3)** legarea covalentă a polisulfonei formilate cu amfotericina B prin unități iminice

Tabelul 3.1. Compoziția derivaților iminici de polisulfonă și a sistemelor de eliberare obținute

Probă	m _{PSFF-1} (g)	m _{AmB} (g)	Raport molar CHO/NH ₂	m _{PEG} (g)	V _{DMSO} (mL)
P3	0,25	0,141	3/1	0,25	24,20
P5	0,25	0,083	5/1	0,25	22,00
P10	0,25	0,041	10/1	0,25	20,37
P20	0,25	0,020	20/1	0,25	19,29
PA	-	0,020	-	0,25	12,27

Iminare:

P3*, P5*, P10*, P20*

Amestec fizic cu PEG:

P3, P5, P10, P20

P3, P5*, P10*, P20* au aceeași compoziție ca P3, P5, P10, P20, dar fără PEG.

Structura polisulfonei clorometilate (**PSFCM**), utilizată ca intermediar, precum și a celei formulate a fost demonstrată prin spectroscopie ¹H-RMN. Spectrul ¹H-RMN (Figura 3.1.) al polisulfonei clorometilate a prezentat un semnal la 4,54 ppm, atribuit celor doi protoni din gruparea –CH₂Cl, alături de celelalte semnale de rezonanță specifice protonilor aromatici, localizate în intervalul 7,87-6,83 ppm. De asemenea, a fost observat un singlet situat la 1,70 ppm, care corespunde celor șase protoni ai grupării izopropil din unitățile monomerice de polisulfonă. După substituirea atomului de clor cu aldehida salicilică (SA) în spectrul ¹H-RMN al derivatului formulat a apărut un semnal situat la 10,31-10,26 ppm care corespunde protonului aldehydic. În plus, semnalul celor doi protoni ai punții metilenice a fost deplasat la 5,13 ppm, ca urmare a electronegativității mai mari a atomului de oxigen, având un efect de dezecranare.

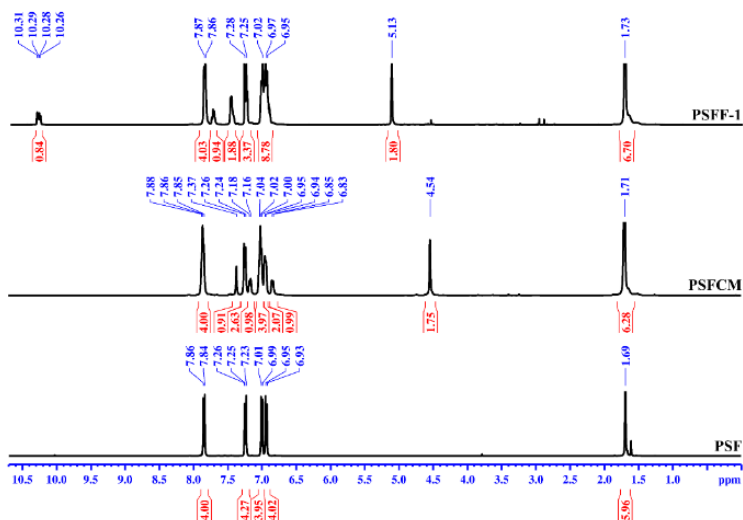


Figura 3.1. Spectrele ¹H-RMN ale polisulfonei (**PSF**), polisulfonei clorometilate (**PSFCM**) și polisulfonei formulate (**PSFF-1**)

Spectrele RMN ale probelor **P3***, **P5*** și **P10*** au evidențiat apariția unui nou semnal la 8,6 ppm, atribuit protonului iminic (Figura 3.4.). Analiza comparativă a rapoartelor dintre valorile integralelor semnalelor corespunzătoare protonilor aldehydici și iminici pentru probele **P3***, **P5*** și **P10*** a evidențiat o creștere progresivă de la proba **P10*** la proba **P3***, în concordanță cu creșterea cantității de AmB grefată pe catena de **PSFF-1** de la **P10*** la **P3***, conform Tabelului 3.1. [20]. În cazul probei **P20***, nu a fost detectat niciun semnal nou în spectrul ^1H -RMN, cel mai probabil deoarece, în acest caz, cantitatea de imină formată a fost foarte mică în comparație cu masa mare a celorlalte componente.

Microfotografiile SEM ale filmelor obținute au relevat o suprafață relativ netedă, fără fisuri sau defecte vizibile. De asemenea, absența aglomerărilor micrometrice sugerează o structură uniformă pe întreaga suprafață a probelor. Imaginile obținute în secțiunea transversală au evidențiat o structură compactă, cu o rugozitate moderată. Analizând datele obținute prin SEM, nu s-au observat diferențe morfologice semnificative între probele analizate, nici agregări, indiferent de cantitatea de AmB legată de catena de **PSFF-1**. Acest rezultat indică faptul că reacția de iminare, deși are loc într-un mod statistic, conduce la formarea unor polimeri cu o morfologie uniformă.

Rezistența filmelor polimerice a fost evaluată prin estimarea pierderii procentuale a masei

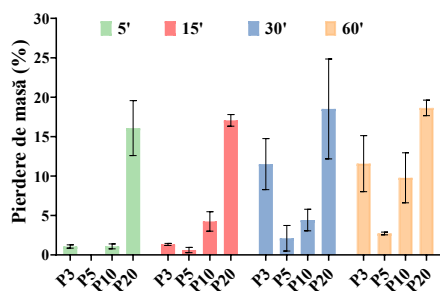


Figura 3.9. b) Stabilitatea hidrolitică a probelor investigate

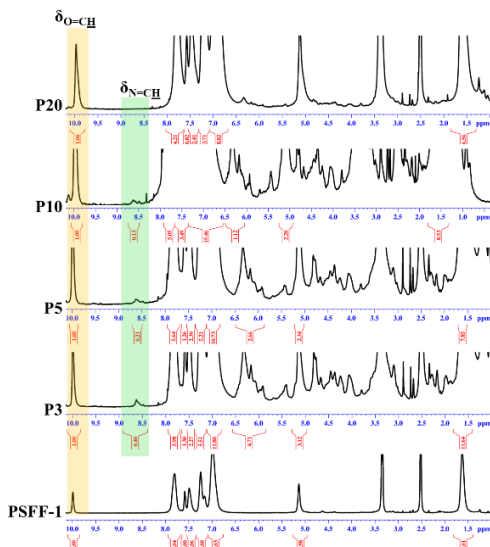


Figura 3.4. Spectrele ^1H -RMN ale sistemelor de eliberare a medicamentelor

peliculelor după imersarea acestora în apă timp de 5, 15, 30 și 60 minute. Rezultatele au relevat scăderea stabilității hidrolitice după 30 și 60 de minute de la imersare, înregistrându-se pierderi de masă cuprinse între 2 și 18 % după o oră (Figura 3.9.b). Cea mai bună stabilitate hidrolitică a fost observată în cazul probei **P5**, în timp ce proba **P20** a fost cea mai susceptibilă la degradare în prezența apei. Totuși, probele **P3-P10** au prezentat o pierdere de masă sub 10 %, în acord cu limitele admise pentru aplicația vizată [21].

Având în vedere că medicamentul antifungic este grefat pe lanțurile de **PSFF-1** prin legături de tip imină, care sunt reversibile în prezența umidității, eliberarea acestuia a fost monitorizată *in vitro* în PBS (pH = 7,4), timp de 48 de ore. Probele studiate au eliberat medicamentul cu viteze diferite, astfel: cea mai mare viteză de eliberare a fost înregistrată pentru proba **P20**, care conține cea mai mică cantitate de AmB, în timp ce cea mai mică viteză de eliberare a fost înregistrată pentru proba **P3**, care conține cea mai mare cantitate de medicament. Datele cinetice obținute după experimentul de eliberare *in vitro* au evidențiat faptul că densitatea de grefare a unităților de tip imină pe lanțurile de **PSFF-1** reprezintă un instrument important care poate fi utilizat pentru ajustarea vitezei de eliberare.

Așa cum a fost menționat anterior, materialele au fost proiectate cu scopul de a obține acoperiri bioactive cu proprietăți antifungice, care ar putea fi utilizate în tratamentul infecțiilor fungice ale unghiei. Prin urmare, activitatea antifungică a formulărilor a fost evaluată pe mai multe tulpini de fungi, asociate de obicei cu infecția unghiei: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* și *S. cerevisiae*. Cea mai eficientă activitate antifungică a fost observată în cazul probei **P3** față de toate tulpinile testate, în special față de *C. glabrata* ATCC20019 (cu un diametru al zonei de inhibiție de 31 mm) (Figura 3.11.a).

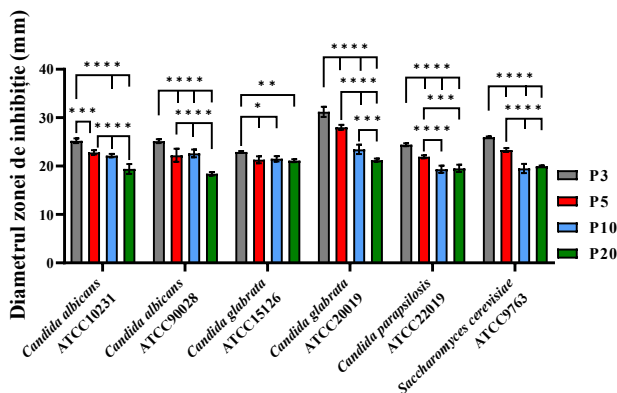
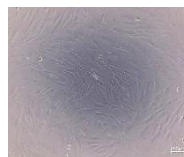
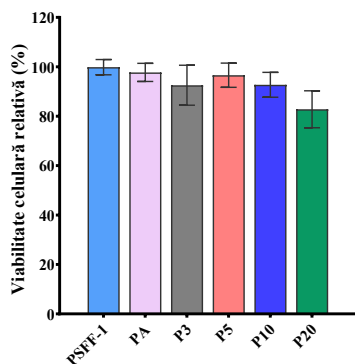


Figura 3.11. a) Activitatea antifungică a probelor față de tulpinile testate

Citocompatibilitatea materialelor a fost evaluată conform standardului ISO 10993-5: Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale – Partea 5: Teste de citotoxicitate *in vitro* (2009) [22], care stipulează că un material este considerat non-citotoxic dacă viabilitatea relativă a celulelor în prezența extractului său depășește 70 % prin comparație cu un control netratat. În urma incubării fibroblastelor cu extractele obținute din probele sintetizate, viabilitatea relativă a celulelor a înregistrat valori de peste 82 % (Figura 3.12.). Prin urmare, rezultatele testului MTS confirmă fără echivoc natura non-citotoxică a materialelor evaluate, evidențiind faptul că atât materialele, cât și componentele eliberate din acestea nu au un efect negativ asupra metabolismului celular sau proliferării *in vitro*. Mai mult, analiza celulelor în câmp luminos arată faptul că morfologia fibroblastelor care au fost în contact cu extractul din probele **P3-P20** rămâne nemodificată în raport cu proba control, acestea prezentând o formă fusiformă.



Control



P5

Figura 3.12. Viabilitatea celulară relativă după 24 de ore pentru soluțiile de extract ale sistemelor studiate. Datele sunt exprimate ca procent din viabilitatea grupului de control ($n = 9 \pm DS$). Imagini de microscopie în câmp luminos

Capitolul 4

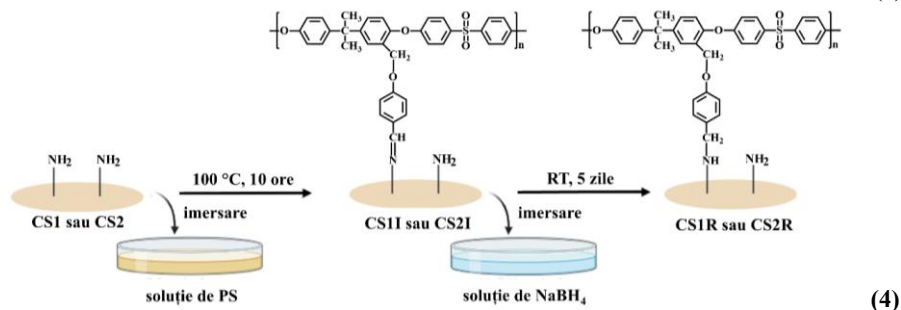
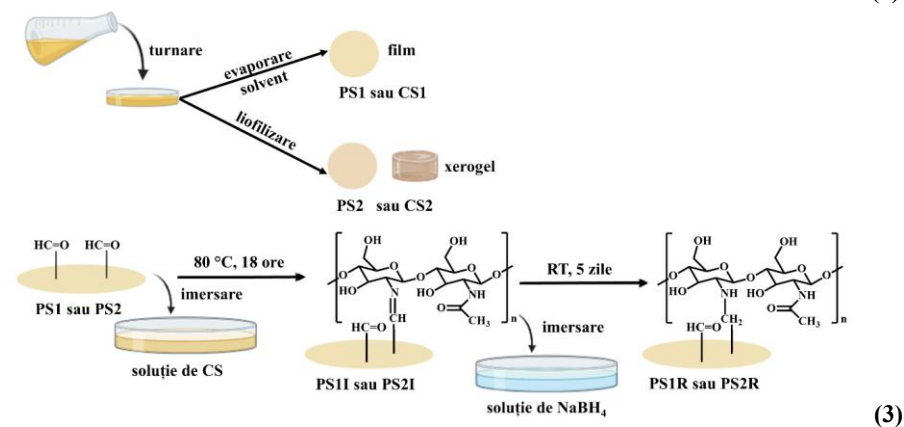
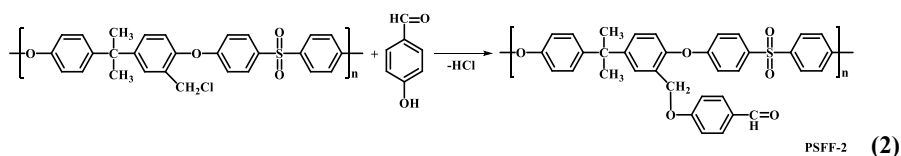
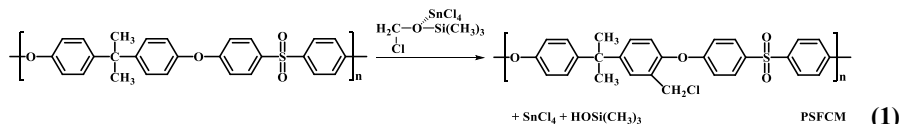
Materiale bioactive pe bază de chitosan și polisulfonă obținute prin legături covalente de tip imină și amină

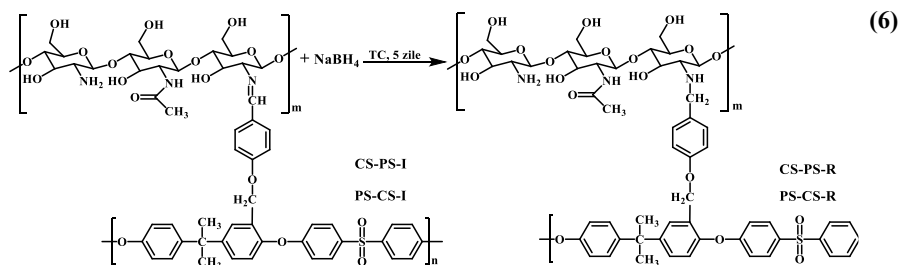
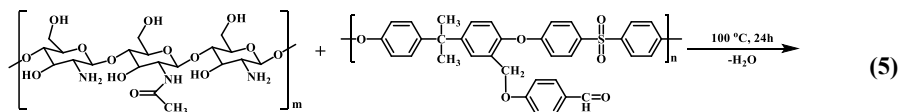
4.1. Introducere

Principalele proprietăți care recomandă utilizarea *polisulfonei* în diverse aplicații biomedicale, inclusiv ca dispozitive implantabile, biosenzori și dispozitive care intră în contact cu sângele, sunt stabilitatea chimică, termică și hidrolitică, rezistența mecanică remarcabilă și temperatura de tranziție vitroasă ridicată [23]. În ciuda proprietăților sale fizice și chimice excelente, hidrofobicitatea inherentă a polisulfonei reprezintă o limitare majoră, deoarece favorizează adsorbția rapidă a proteinelor pe suprafața materialului, declanșând astfel aderența, agregarea și coagularea plachetelor în timpul expunerii îndelungate a acestor materiale în contact cu sângele uman [24]. O metodă eficientă de a îmbunătăți hidrofilicitatea materialelor de polisulfonă constă în introducerea în soluțiile de turnare a agenților organici sau anorganici hidrofilici [25, 26]. Chitosanul, un biopolimer obținut prin tratarea alcalină a chitinei, a primit o atenție semnificativă în comunitatea științifică pentru proprietățile sale remarcabile, cum ar fi hidrofilicitatea, biocompatibilitatea și biodegradabilitatea, dar și pentru abilitatea sa de formare a filmelor [27]. Deși numeroase cercetări au explorat modificarea polisulfonei cu chitosan, utilizând preponderent tehnici de amestecare sau acoperire a suprafeței [27–29], până în prezent literatura de specialitate nu a documentat legarea covalentă directă a celor doi polimeri. În acest context, scopul acestui studiu a fost acela de a pune bazele unei noi metode de legare covalentă a chitosanului și polisulfonei într-un material nou cu proprietăți îmbunătățite, cum ar fi stabilitatea termică, morfologia poroasă, capacitatea de a transporta vapori de apă sau activitatea antioxidantă.

4.2. Rezultate și discuții

O serie de materiale pe bază de polisulfonă și chitosan, legate covalent prin unități de tip imină sau amină, a fost preparată utilizând diferite căi de sinteză: **(1)** clorometilarea polisulfonei, **(2)** eterificarea polisulfonei clorometilate, **(3)** grefarea chitosanului pe suprafața materialelor pe bază de polisulfonă formulată (**PSFF-2**) prin iminare și aminare, **(4)** grefarea polisulfonei formulate pe suprafața materialelor pe bază de chitosan prin iminare și aminare, sinteza în masă a polisulfonei formulate grefată cu lanțuri de chitosan prin unități de tip imină **(5)** sau **(6)** amină (Schema 4.1.).





Schema 4.1. Principalele etape din procesul de obținere al materialelor hibride studiate și codurile corespunzătoare: **(1)** clorometilarea polisulfonei; **(2)** eterificarea polisulfonei clorometilate; **(3)** grefarea chitosanului pe suprafața materialelor pe bază de polisulfonă formilată sau **(4)** grefarea polisulfonei formilate pe suprafața materialelor pe bază de chitosan prin unități imină sau amină; sinteza în masă a polisulfonei formilate cu lanțuri de chitosan prin unități de tip **(5)** imină sau **(6)** amină

Rezultatele analizelor spectroscopice RMN și FTIR au evidențiat sinteza cu succes a polisulfonei cu grupare formil, care a fost folosită în continuare cu scopul de a reacționa cu chitosanul prin intermediul reacției de condensare acidă, pentru a obține unități de tip imină, care au fost supuse ulterior unei reacții de aminare reductivă, pentru a obține unități de tip amină secundară.

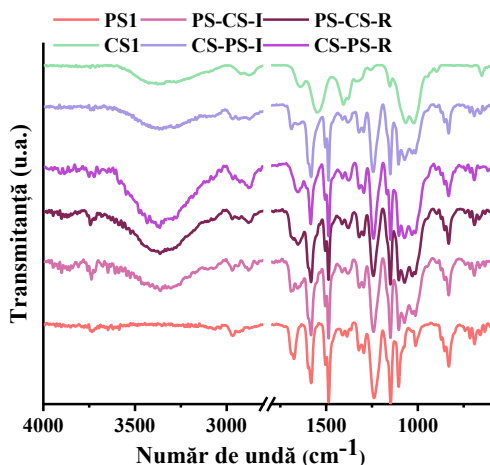


Figura 4.5. Spectrele FTIR pentru c) filmele preparate prin reacția de iminare în masă a polisulfonei formilate și chitosanului (**PS-CS-I**, **CS-PS-I**) și a aminelor corespunzătoare (**PS-CS-R**, **CS-PS-R**)

În spectrele FTIR (Figura 4.5.) ale tuturor materialelor rezultate prin iminarea **PSFF-2** cu chitosan, indiferent de metoda utilizată pentru obținerea acestora, fie prin iminare la suprafață (**CSII**, **PSII**, **CS2I**, **PS2I**), fie prin sinteză în masă (**CS-PS-I** și **PS-CS-I**), s-a observat că banda largă specifică vibrației legăturii amidice C-N din unitățile de glucozamină acetilată din chitosan (1642 cm^{-1}) a fost înlocuită de o bandă ascuțită cu un maxim de absorbție la 1650 cm^{-1} , cel mai probabil datorită supunerii benzilor caracteristice grupărilor de tip imină și amidă [30].

În spectrele FTIR ale materialelor aminate, indiferent de metoda de preparare, se poate observa că banda de absorbție caracteristică vibrației grupării de tip imină a scăzut în intensitate sau a dispărut, sugerând conversia parțială sau totală în amină secundară, în urma tratării materialelor investigate cu o soluție de NaBH_4 .

Comportamentul termic al materialelor investigate a fost studiat prin analiză termogravimetrică (ATG), pentru a evalua influența modificării chimice asupra stabilității termice (Figura 4.8.). În timp ce probele martor de chitosan și polisulfonă nemodificată au prezentat etape caracteristice de degradare în jurul valorii de 290°C și respectiv, în jurul valorii de 500°C [31, 32], regula generală a fost deplasarea maximului de degradare către temperaturi mai scăzute, în acord cu formarea de domenii bogate în chitosan și domenii bogate în polisulfonă. Procentul reziduului de cenușă a variat între 24 și 53 %, în funcție de polimerul dominant și de procesul de obținere.

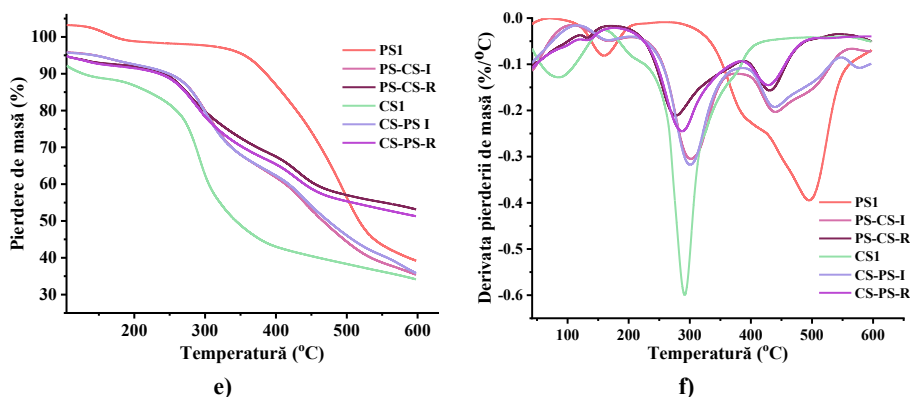


Figura 4.8. Curbele TG și DTG ale e, f) filmelor preparate prin reacția în masă a polisulfonei formulate și chitosan, prin legături de tip imină (PS-CS-I, CS-PS-I) sau amină (PS-CS-R, CS-PS-R)

Pentru a evalua în profunzime capacitatea materialelor studiate de a absorbi lichide, a fost investigată capacitatea lor de sorbție/desorbție a apei, care oferă informații atât despre migrarea apei prin structura acestora, precum și despre factorii care influențează absorbția sau eliberarea apei [33]. Curbele de sorbție/desorbție evidențiază faptul că modificarea filmelor de polisulfonă sau a xerogelurilor cu lanțuri de chitosan a dus la o creștere a retenției de apă de la $\sim 8\%$ la $\sim 20\%$, în timp ce funcționalizarea chitosanului cu **PSFF-2** a determinat o scădere de la $\sim 55\%$ la $\sim 38\%$, subliniind rolul chitosanului în îmbunătățirea retenției de lichide (Figura 4.13.). În plus, sinteza în masă a materialelor **PS-CS** a condus la valori de absorbție a apei între $35\text{--}45\%$, sugerând că această metodă este potrivită pentru controlul proprietăților materialului. Acest aspect poate fi corelat cu perturbarea echilibrului hidrofil-hidrofob al materialelor testate, având în vedere abundența grupărilor hidrofile ale chitosanului, capabile să interacționeze cu moleculele de apă ($-\text{OH}$, $-\text{N}=\text{CH}$, NH_2 , $-\text{NH}-$).

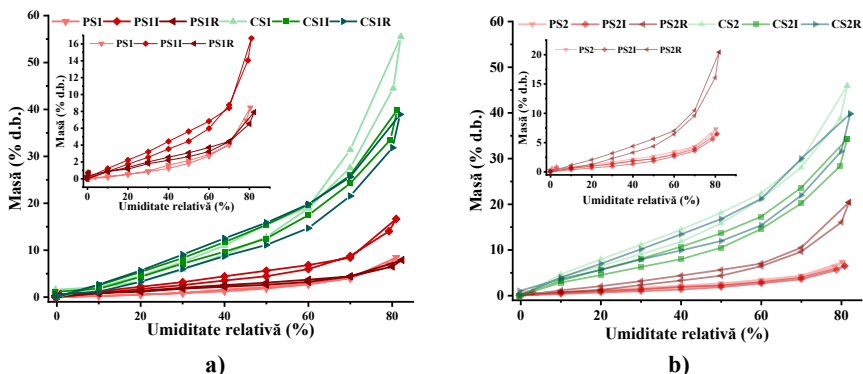


Figura 4.13. Izotermele de sorbție/desorbție a vaporilor de apă ale probelor studiate comparativ cu materialele de referință: **a)** filme de polisulfonă (PS1I, PS1R) sau chitosan (CS1I, CS1R) modificate la suprafață prin iminare sau aminare și filme polimerice nemodificate (PS1, CS1); **b)** xerogeluri pe bază de polisulfonă (PS2I, PS2R) sau chitosan (CS2I, CS2R) modificate la suprafață prin iminare sau aminare și xerogeluri polimerice nemodificate (PS2, CS2)

Biodegradarea a fost investigată în prezență de lizozimă, o enzimă din fluidele biologice, capabilă să cliveze legăturile β -(1 $\rightarrow$ 4) glicozidice dintre unitățile D-glucozamină și *N*-acetil D-glucozamină din structura chitosanului [34]. Cea mai mare pierdere de masă a fost înregistrată în cazul filmelor și xerogelurilor de chitosan nemodificate, de 46 % și, respectiv, 19 % (Figura 4.15.a).

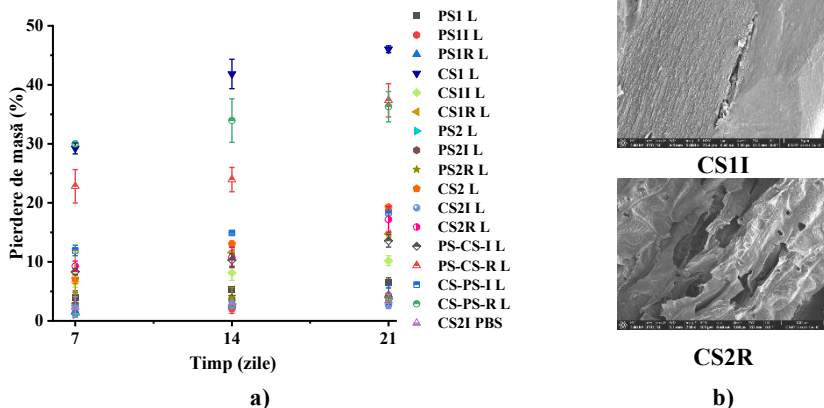


Figura 4.15. a) Reprezentarea grafică a cineticii de biodegradare a materialelor investigate în prezența lizozimei și **b)** micrografii SEM reprezentative post-degradare

Prin grefarea polisulfonei pe suprafața materialelor pe bază de chitosan, procesul de degradare a fost încetinit semnificativ, atingând pierderi de masă de doar 10 % și 2 % după 21 de zile de contact cu lizozima. Acest comportament poate fi explicat prin formarea unui strat hidrofob după grefarea polisulfonei formulate pe suprafața materialelor din chitosan, care împiedică pătrunderea lizozimei în structura materialului. În cazul materialelor obținute prin reacția în masă, procentul de pierdere de masă a fost mai ridicat, cu valori apropiate de cele ale

materialelor din chitosan. Acest fenomen poate fi explicat luând în considerare natura poroasă a materialelor, care a favorizat accesul enzimei la domeniile de chitosan. Probele care au fost imersate în soluția de lizozimă au fost spălate și liofilizate și ulterior analizate prin microscopie electronică de baleiaj, cu scopul de a observa influența biodegradării asupra morfologiei lor. După cum se poate observa în Figura 4.15.b, atât pe suprafața materialelor, cât și în masa acestora au apărut crăpături, urmare a procesului de erodare sub acțiunea enzimei, în acord cu pierderea de masă determinată prin măsurători gravimetrice.

Capacitatea materialelor studiate de a capta radicali liberi a fost investigată folosind metoda DPPH. Cea mai bună activitate antioxidantă a fost observată în cazul probelor **CS-PS-I**, **PS-CS-I** și **CS2I** (Figura 4.16.), a căror performanță poate fi explicată prin efectul sinergic dintre grupările funcționale -OH, -NH₂ și -HC=N- prezente în structura chimică a materialului, precum și prin perturbarea rețelei de legături de hidrogen dintre grupările hidroxil și amino de pe lanțul de chitosan, făcându-le astfel disponibile pentru captarea radicalilor liberi [35].

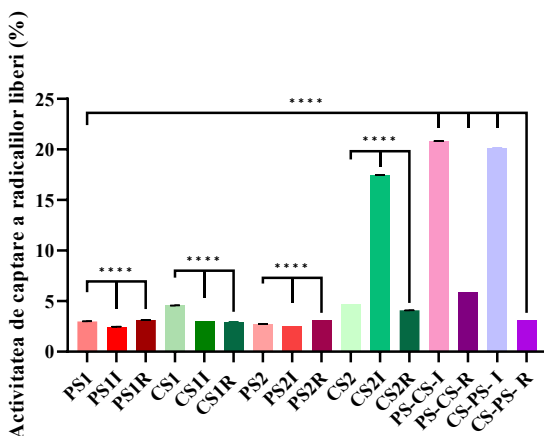


Figura 4.16. Activitatea antioxidantă a materialelor investigate în stare solidă

Având în vedere capacitatea chitosanului de a induce hemostaza prin contactul direct cu globulele roșii și trombocitele și prin urmare utilizarea lui pe scară largă în îngrijirea rănilor, pentru a opri sângerarea [36], a fost investigată capacitatea materialelor pe bază de polisulfonă și chitosan de a favoriza coagularea sângelui, cu scopul de a identifica potențialul aplicativ al acestora în domeniul biomedical. Pentru o analiză comprehensivă, materialele au fost comparate cu un burete hemostatic comercial (pe bază de gelatină-Surgispon) și tifon. Materialele pe bază de chitosan și polisulfonă au prezentat valori ale absorbânței cuprinse între 0,01 (**CS2I**) și 0,19 (**CS-PS-R**), mult mai mici decât absorbânța sângelui pur netratat (2,1), fapt care sugerează că o mare parte din sângele depus pe suprafața materialelor a fost coagulat. Mai mult, majoritatea materialelor au prezentat o eficiență de coagulare superioară tifonului și, în unele cazuri (**PS1**, **PS1I**, **CS2**, **CS2R**, **PS-CS-I**, **PS2I**), chiar mai mare decât cea a buretelui hemostatic comercial.

O altă proprietate investigată în acest studiu a fost capacitatea materialelor de a absorbi sângele, cu impact pozitiv asupra procesului de coagulare (Figura 4.20.) [37]. Cea mai mare

capacitate de umflare a fost observată în cazul xerogelului de chitosan nemodificat (11,95 mg/mg) și a xerogelului de chitosan modificat cu polisulfonă prin aminare (9,36 mg/mg). Mai mult, aceste materiale au prezentat cele mai mari valori ale creșterii de masă în urma contactului direct cu sângele, depășind-o pe cea a buretelui hemostatic comercial (8,85 mg/mg) și pe cea a tifonului (3,18 mg/mg). Acest fapt poate fi corelat cu morfologia foarte poroasă a materialului, dar și cu prezența grupărilor hidroxil și amino din structura chitosanului care permit interacțiunea cu moleculele de apă din sânge, conducând astfel la absorbția sângelui și implicând la creșterea semnificativă a masei.

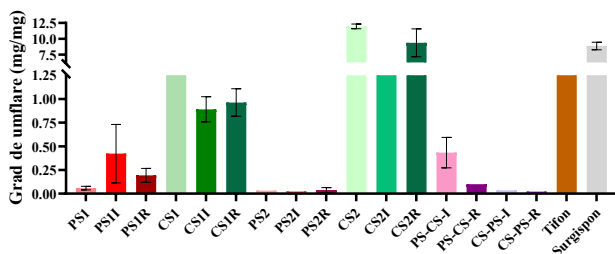


Figura 4.20. Gradul masic de umflare (mg/mg) al materialelor investigate în sânge după 10 minute

De remarcat faptul că modificarea xerogelului de chitosan nu a afectat semnificativ porozitatea și hidrofilicitatea materialului, fapt care sugerează că alăturarea celor doi polimeri nu are un efect negativ asupra capacității de umflare și a proprietăților hemostatice ale chitosanului. În schimb, filmul și xerogelul de polisulfonă, precum și probele **CS-PS-I** și **CS-PS-R** au prezentat cea mai mică capacitate de umflare, cu valori cuprinse între 0,02-0,05 mg/mg. Acest rezultat este similar cu cel obținut în urma experimentului de umflare în PBS și poate fi corelat cu afinitatea redusă a polisulfonei pentru moleculele de apă, limitând astfel absorbția lor.

CONCLUZII GENERALE

Teza de doctorat intitulată „**Materiale polisulfonice cu proprietăți biologice active**” conține 195 de pagini împărțite în cinci capitole care includ 20 tabele, 103 figuri, 30 scheme și 467 indicații bibliografice. Teza este structurată în două părți - un studiu de literatură (Capitolul 1) și partea de contribuții originale (Capitolele 2-5) și se încheie cu concluziile generale desprinse în urma studiilor.

Primul capitol prezintă date de literatură privind polisulfona UDEL și derivați de polisulfonă, relația structură-proprietăți și principalele aplicații ale materialelor pe bază de polisulfonă și derivați de polisulfonă din domeniul biomedical.

Rezultatele originale, organizate în patru capitole distincte, au abordat următoarele direcții de cercetare:

- ✓ Obținerea și caracterizarea unor derivați de polisulfonă, cu un studiu particular concentrat pe evaluarea solubilității acestora prin aplicarea unor aproximații teoretice și

experimentale și un alt studiu axat pe utilizarea polisulfonei cuaternizate ca substrat pentru acoperiri bioactive;

- ✓ Obținerea de acoperiri pentru tratarea infecțiilor fungice ale unghiei, pe bază de polisulfonă formilată și amfotericină B, utilizând chimia dinamică a legăturii de tip imină;
- ✓ Obținerea și caracterizarea unor materiale hibride pe bază de polisulfonă și chitosan legate prin unități de tip imină sau amină.

Din studiile întreprinse au fost desprinse următoarele concluzii:

1. Au fost sintetizați doi derivați de polisulfonă: polisulfonă cu grupe cuaternare de amoniu (**PSFQ**) și polisulfonă cu grupe de acid sulfonic (**PSFS**). Derivatul clorometilat al polisulfonei (**PSFCM**) a fost de asemenea sintetizat, caracterizat și utilizat ca intermediar în sinteza **PSFQ**.

- A fost optimizat protocolul reacției de clorometilare a **PSF**, cu scopul de a obține un derivat cu grad de substituție mare, fără reacții secundare.
- A fost optimizat protocolul reacției de cuaternizare a **PSFCM** pentru a obține un derivat **PSFQ** cu grad de substituție reproductibil (de 1,35) și al reacției de sulfonare pentru a obține un derivat **PSFS** cu grad de substituție de 0,6.
- Structura derivaților de polisulfonă a fost confirmată prin spectroscopie FTIR și RMN (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, ^{15}N -RMN, experimente bidimensionale).
- Caracterizarea termică prin ATG a polimerilor obținuți a evidențiat că stabilitatea termică a acestora scade în următoarea ordine: **PSF**>**PSFCM**>**PSFS**>**PSFQ**.
- Au fost determinați parametrii de solubilitate ai polisulfonelor funcționalizate prin aplicarea metodei îmbunătățite a contribuției de grup în diferiți solvenți uzuali, iar valorile parametrilor parțiali de solubilitate ai polisulfonelor sintetizate au fost corelate cu parametrii parțiali de solubilitate Hansen ai solvenților analizați.
- Conform teoriei sferei de solubilitate Hansen, DMF, DMSO, NMP și DMAc au fost solvenți cei mai compatibili cu cele două polisulfone ionice.
- Parametrii de solubilitate ai derivaților de polisulfonă au fost calculați și pe baza valorilor viscozității intrinseci determinate experimental pentru cele două polisulfone ionice în DMF, DMSO, NMP și DMAc, iar rezultatele au evidențiat faptul că DMF este solventul cel mai bun din punct de vedere termodinamic.
- Cei mai compatibili solvenți, identificați prin metodele teoretice și experimentele anterioare, au fost ulterior folosiți la obținerea de filme pe bază de **PSFQ** și **PSFS**.
- Investigarea topografiei filmelor turnate din soluțiile derivaților de polisulfonă sintetizați, prin microscopie de forță atomică, a indicat DMF-ul ca solvent optim pentru obținerea de filme netede, cu valori ale rugozității medii și ale rugozității medii pătrățice mai mici decât cele obținute cu alți solvenți.
- Umectabilitatea filmelor de **PSFQ** și **PSFS** a fost determinată prin măsurători ale unghiului de contact cu diferiți solvenți și corelarea valorilor acestora cu valorile RED determinate prin calcule teoretice a permis clasificarea solvenților investigați în trei regiuni de compatibilitate.
- Parametrii hidrodinamici (viscozități reduse, specifice și intrinseci etc.) și

termodinamici ai **PSFQ** și **PSFS** și interacțiunile dintre lanțurile macromoleculare și moleculele de solvent au fost investigate prin măsurători viscozimetrice, aplicând modelele Huggins și Wolf, care au confirmat, pe de o parte, caracterul de polielectrolit al celor doi polimeri și au indicat, pe de altă parte, o afinitate mai mare a **PSFQ** pentru DMF decât **PSFS**.

2. Au fost obținute cinci formulări prin combinarea polisulfonei cuaternizate cu un medicament antifungic, amfotericina B (AmB) și/sau un antibiotic cu spectru larg, norfloxacină (NFX), în diferite rapoarte gravimetrice, cu scopul de a crea acoperiri bioactive pentru dispozitive biomedicale.

- Analiza structurală (¹H-RMN, FTIR și UV-Vis) a formulărilor a evidențiat formarea unor interacțiuni puternice între matricea polimerică și cele două medicamente.
- Caracterizarea morfologică a formulărilor, realizată prin POM, WXR și SEM, a confirmat dispersia fină, la nivel submicrometric, a medicamentelor în matricea polimerică.
- Determinarea proprietăților de suprafață a condus la valori ale unghiului de contact cu apa cuprinse între 60 și 90 grade și valori ale energiei de suprafață în intervalul 16,5-44,9 mN/m, indicând umectabilitate moderată și capacitate de a susține aderența și proliferarea celulelor, caracteristici necesare pentru dispozitivele medicale utilizate în contact cu țesuturile vii.
- Evaluarea cineticii de eliberare a NFX a evidențiat eliberarea susținută a acesteia, cu valori de aproximativ 74 % medicament eliberat pe parcursul a 48 de ore, indiferent de compoziția probei, cu o eliberare mai rapidă, de 63 ± 6,6 %, în primele 4 ore.
- Monitorizarea cineticii eliberării AmB din matricea polimerică nu a fost posibilă, concentrația medicamentului în supernatant scăzând sub limita de detecție a spectrofotometrului UV-Vis.
- Fitarea datelor cinetice experimentale de eliberare a NFX pe diverse modele matematice a sugerat că eliberarea NFX din matricea polimerică este un proces controlat de difuzie și influențat de cantitatea de medicament, timpul de expunere și hidrofilicitatea matricei.
- Formulările au prezentat activitate antioxidantă semnificativă, corelată cu conținutul de medicament, atingând o capacitate de inhibiție a radicalilor liberi de 67,49 % pentru proba cu conținutul cel mai mare de medicamente, atribuită în special contribuției amfotericinei B.
- Toate probele au prezentat activitate antimicrobiană față de speciile bacteriene și fungice asociate frecvent cu infecțiile nosocomiale, *S. aureus* (bacterie Gram-pozitivă), *E. coli* (bacterie Gram-negativă) și *C. albicans* (microorganism oportunist), conform rezultatelor a două teste antimicrobiene *in vitro* (standard industrial japonez și Kirby Bauer), cu valori ridicate ale diametrelor de inhibiție de până la 39 mm față de *E. coli* și 20 mm față de *C. albicans*.
- Datele experimentale au demonstrat posibilitatea utilizării polisulfonei cuaternizate ca matrice pentru încapsularea agenților antimicrobieni în vederea obținerii de acoperiri

pentru dispozitive medicale sau instrumente chirurgicale, capabile să prevină infecțiile care pot apărea la nivelul situsului chirurgical.

3. Au fost obținute sisteme de eliberare controlată a unui medicament antifungic, amfotericină B, prin reacția de condensare acidă a agentului terapeutic cu un derivat formilat de polisulfonă, având ca scop aplicarea acestora ca lacuri de unghii în tratamentul topic al onicomicozelor.

- Caracterizarea structurală prin spectroscopie RMN și FTIR a demonstrat obținerea cu succes a derivatului formilat de polisulfonă.
- Au fost obținuți derivați iminici de polisulfonă și AmB sintetizați prin reacția de condensare în diferite rapoarte molare ale grupărilor de tip aldehydă din polisulfona formilată și de tip amină din AmB. Filme flexibile și transparente au fost obținute prin utilizare de PEG ca agent de creștere a vâscozității și de filmare.
- Caracterizarea structurală a sistemelor de eliberare, realizată prin ¹H-RMN, FTIR și UV-Vis, a demonstrat formarea de legături iminice între grupările de tip aldehydă ale polisulfonei formilate și gruparea de tip amină a AmB.
- Analiza morfologică pe suprafață și în secțiune, prin microscopie SEM, a evidențiat o suprafață continuă și netedă pentru toate probele, fără fisuri, indicând o bună calitate a filmelor obținute.
- Microscopia AFM a relevat o topografie rugoasă a suprafețelor, cu valori medii ale rugozităților medii de aproximativ 15 nm.
- Datele de WXR și imaginile POM au evidențiat caracterul semicristalin al sistemelor obținute, în acord cu structura materialelor.
- Analiza termogravimetrică a probelor investigate a indicat stabilitatea termică ridicată a acestora și, de asemenea, a confirmat indirect legarea covalentă a medicamentului de polisulfona formilată, prin absența etapei de degradare specifice.
- Determinarea unghiului de contact cu apa a demonstrat că legarea covalentă a medicamentului de PSF conduce la îmbunătățirea considerabilă a hidrofilicității PSF.
- Probele au prezentat o stabilitate hidrolitică ridicată, în concordanță cu cerințele pentru aplicarea ca lac de unghii, cu o pierdere de masă sub 10% în decurs de o oră, în mediu apos.
- Cinetica de eliberare a AmB, monitorizată prin UV-Vis, a demonstrat capacitatea probelor de a elibera medicamentul susținut, cu o eliberare de peste 58 % pe parcursul a 48 ore.
- Fitarea datelor cinetice pe modele matematice a arătat că eliberarea medicamentului antifungic din sistemele sintetizate este un proces complex, dictat în egală măsură de difuzie, umflare și erodarea matricii.
- Investigarea activității antifungice a materialelor prin metoda Kirby-Bauer, pe tulpinile *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* și *S. cerevisiae*, a evidențiat zone mari de inhibiție (31 mm), susținând aplicarea acestor sisteme ca acoperiri antifungice.
- Evaluarea citotoxicității prin testul MTS pe fibroblaste a arătat o viabilitate celulară mai mare de 80%, indicând biocompatibilitatea probelor și siguranța utilizării lor în bioaplicații, în concordanță cu ISO 10993-5 pentru dispozitive medicale.

4. Au fost obținute materiale hibride pe bază de chitosan și polisulfonă formilată prin reacția de iminare sau aminare la suprafață sau prin condensarea în masă a celor doi polimeri.

- A fost sintetizat un nou derivat de polisulfonă cu grupări formil în urma reacției dintre polisulfona clorometilată și *para*-hidroxi benzaldehidă, iar structura sa a fost caracterizată prin $^1\text{H-RMN}$, $^{13}\text{C-RMN}$ și experimente bidimensionale.
- Au fost sintetizate materiale noi, polisulfonă-chitosan, prin reacția de iminare a polisulfonei formilate cu chitosanul, în diverse abordări: (1) iminarea filmului de chitosan cu polisulfonă formilată; (2) iminarea filmului de polisulfonă formilată cu chitosan; (3) iminarea xerogelului de chitosan cu polisulfonă formilată; (4) iminarea xerogelului de polisulfonă formilată cu chitosan; (5) iminare în masă a polisulfonei formilate cu chitosan. Iminele obținute au fost supuse unei reacții de reducere pentru a obține derivații amino polisulfonă-chitosan corespunzători.
- Materialele obținute au fost caracterizate din punct de vedere structural prin spectroscopie FTIR și spectrofotometrie UV-Vis, ambele metode confirmând obținerea derivaților vizați.
- Analiza de difracție de raze X la unghi larg a demonstrat prezența unei stratificări pe distanțe scurte, cel mai probabil sub formă de aglomerări de dimensiuni mici, ca o posibilă consecință a segregării hidrofob/hidrofil în cazul materialelor obținute.
- Analiza ATG a arătat că degradarea termică a materialelor studiate urmează profilul de degradare al celor doi polimeri, fără modificări majore în cazul filmelor, dar cu deplasări consistente în cazul materialelor sintetizate în masă, indicând o amestecare fină a celor doi polimeri datorată legării lor covalente.
- Analiza materialelor prin microscopie SEM a indicat o morfologie mai mult sau mai puțin poroasă, dependentă de compoziție și modul de obținere.
- Analiza mai detaliată a suprafeței, prin AFM, a relevat o topografie în general rugoasă, fără un trend clar al variației valorilor rugozității medii.
- Majoritatea materialelor pe bază de polisulfonă și chitosan au prezentat valori ale unghiului de contact cu apa în intervalul 60-90 °, corespunzând unei umectabilități moderate, o caracteristică cunoscută pentru susținerea aderenței și proliferării celulare.
- Probele au prezentat un grad relativ mic de umflare în soluția de PBS, datorat atât proprietăților intrinseci ale polimerilor, cât și legării lor covalente.
- Curbele de sorbție/desorbție au indicat creșterea retenției de apă a materialelor pe bază de polisulfonă în urma modificării acestora cu chitosan, de la ~8 % la ~20 %, subliniind rolul chitosanului în îmbunătățirea hidrofilicității și implicit capacității de a reține lichide.
- Materialele investigate au prezentat o bună capacitate de transport a vaporilor de apă, cele mai bune rezultate au fost înregistrate în cazul materialelor în care chitosanul este polimerul dominant.
- Prezența chitosanului a conferit materialelor susceptibilitate la degradare enzimatică, cu o pierdere de masă de până la 46 %.
- Sistemele obținute au prezentat o activitate antioxidantă ușoară cu o capacitate de legare a radicalilor liberi de 20 % datorată prezenței grupărilor hidroxilice și amino din structura chitosanului.

- Materialele au prezentat o activitate antibacteriană moderată atât față de *S. aureus*, cât și față de *E. coli*.
- Toate sistemele sintetizate au prezentat o ușoară capacitate de coagulare a sângelui, dar și de absorbție a acestuia, proprietate care le recomandă spre a fi utilizate în domeniul biomedical.

Rezultatele originale prezentate în teză au fost sau urmează a fi publicate sub formă de articole științifice în reviste internaționale cotate ISI.

Lucrări publicate/în curs de publicare în reviste cotate ISI

1. **Dumbrava O.**, Filimon A., Marin L., Tailoring properties and applications of polysulfone membranes by chemical modification: Structure-properties-applications relationship, *European Polymer Journal*, **2023**, 196, 112316, <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2023.112316>, F.I.₂₀₂₄ = 6,3.
2. **Dumbrava O.**, Rosca I., Ailincăi D., Marin L., Quaternized polysulfones as matrix for the development of broad-spectrum antimicrobial coatings for medical devices, *Polymers*, **2025**, 17(13), 1869, <https://doi.org/10.3390/polym17131869>, F.I.₂₀₂₄ = 4,9.
3. **Dumbrava O.**, Ailincăi D., Anisie A., Rosca I., Rusu D., Dascalu A., Stoica I., Filimon A., Marin L., Polysulfone–chitosan hybrids *via* imine chemistry: a versatile strategy for functional bioactive materials, *Materials Advances*, **2025**, 6(21), 8167-8191, <https://doi.org/10.1039/D5MA00648A>, F.I.₂₀₂₄ = 4,7.
4. **Dumbrava O.**, Balan-Porcarasu M., Grădinaru L., Marin L., Investigation of the structure-properties relationship of ionic polysulfones: predictive solubility analysis and solution-state characterization, *Polymer Bulletin* (trimisă spre publicare).
5. **Dumbrava O.**, Rosca I., Sandu A.I., Ailincăi D., Bioactive nail coatings for antifungal therapy based on imine linkage reversibility, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* (în evaluare din data de 20 octombrie 2025).

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

1. **Dumbrava O.**, Popovici D., Vasincu, D., Popa O., Ochiuz L., Irimiciuc Ș.A., Agop M., Negură A., Impact of the liquid crystal order of poly(azomethine-sulfone)s on the semiconducting properties, *Polymers*, **2022**, 14, 1487, <https://doi.org/10.3390/polym14071487>, F.I.₂₀₂₄ = 4,9.
2. Filimon A., Dobos A.M., **Dumbrava O.**, Doroftei F., Lupa L., Green blends based on ionic liquids with improved performance for membrane technology: perspectives for environmental applications, *International Journal of Molecular Science*, **2022**, 23, 7961, <https://doi.org/10.3390/ijms23147961>, F.I.₂₀₂₄ = 4,9.
3. Ailincăi D., Moleavin I., Sarghi A., Fifere A., **Dumbrava O.**, Pinteala M., Balan G.G., Rosca I., New hydrogels nanocomposites based on chitosan, 2-formylphenylboronic acid, and ZnO nanoparticles as promising disinfectants for duodenoscopes reprocessing, *Polymers*, **2023**, 12, 2669, <https://doi.org/10.3390/polym15122669>, F.I.₂₀₂₄ = 4,9.
4. Filimon A., Serbezeanu D., Onofrei M., Pelin I.M., **Dumbrava O.**, Suflet D.M., Lupa L., Development of the electrospun membranes based on quaternized

polysulfones with performance and functionality in hemodialysis, *Materials & Design*, **2025**, 254, 114068, <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2025.114068>, F.I.2024 = 7,9.

Lucrări proceeding

1. **Dumbrava O.**, Filimon A., Marin L., Impact of polysulfone functionalization with *N,N*-dimethylbutylamine on conformational characteristics, *Materials Today: Proceedings*, **2023**, 72, 2, 576-579, <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.10.060>.

Proiecte naționale și europene – membru în echipă

1. PN-III-P2-2.1-PED-2019-3013, nr. 310PED/2020: *O nouă tehnologie „verde” pentru tratarea avansată a apei bazată pe membrane de polisulfone funcționalizate/lichide ionice*
2. PN-III-P2-2.1-PED-2021-2700, nr. 579PED/2022: *Tehnologii îmbunătățite pentru dezvoltarea de membrane polisulfonice electrofilate integrate într-un dispozitiv extracorporal aplicabil în insuficiența renală*

Participări la sesiuni științifice naționale și internaționale

a) Comunicări orale

1. Filimon A., **Dumbrava O.**, Dobos A.M., Onofrei M.D., *Performance of quaternized polysulfone membranes in environmental applications dictated by the ionic liquid nature*, Materials, Methods & Technologies, Burgas, Bulgaria, 19 – 22 august **2021**.
2. Lupa L., Tolea S.N., **Dumbrava O.**, Filimon A., *Ionic liquids-based polysulfone membranes for cadmium removal from aqueous solutions*, 11th International Conference on Environmental Engineering and Management, Muttentz, Elveția, 8 – 10 septembrie **2021**.
3. **Dumbrava O.**, Filimon A., Marin L., *Impact of polysulfone functionalization with N,N-dimethylbutylamine on conformational characteristics*, International Conference on Materials Science and Engineering – BRAMAT 2022, Brașov, România, 9 – 11 martie **2022**.
4. **Dumbrava O.**, Roșca I., Ailincăi D., Marin L., *Antimicrobial coatings based on polysulfone for medical devices*, IasiCHEM Conference 7th Edition, Iași, România, 30 – 31 octombrie **2025**.

b) Postere

1. Filimon A., Lupa L., Serbezeanu D., Doboș A.M., **Dumbrava O.**, *Improved technologies for the development of electrospun polysulfone membranes integrated in an extracorporeal device applicable in renal failure*, 27th International Exhibition of Inventions “INVENTICA 2023”, Iași, România, 21 – 23 iunie **2023**.
2. **Dumbrava O.**, Filimon A., Marin L., *Theoretical and experimental approaches applied in the formulation of polysulfone based materials: Solubility parameter and intrinsic viscosity*, 21st International Balkan Workshop on Applied Physics and Materials Science-IBWAP, Constanța, România, 11 – 14 iulie **2023**.
3. **Dumbrava O.**, Serbezeanu D., Stoica I., Bargan A., Filimon A., *New insights in the design of materials based on polysulfones with potential applications in biomedical field: structure-properties relationship*, International Conference of Physical Chemistry– ROMPHYSICHEM 17th, București, România, 25 – 27 septembrie **2023**.

4. Filimon A., Serbezeanu D., Onofrei M., **Dumbrava O.**, Rusu D., Milos E., Lupa L., *Processing of quaternized polysulfone/cellulose acetate phthalate/polyvinylidene fluoride solutions by electrospinning to obtain bioactive fibrous membranes*, International Conference of Physical Chemistry– ROMPHYSICHEM 17th, București, România, 25 – 27 septembrie **2023**.
5. Serbezeanu D., Bubulac T.V., Anghel I., Rîmbu C.M., **Dumbrava O.**, *Sustainable Packaging applications utilizing organophosphorus reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposites*, International Conference of Physical Chemistry– ROMPHYSICHEM 17th, București, România, 25 – 27 septembrie **2023**.
6. **Dumbrava O.**, Ailincăi D., Rusu D., Dascălu A., Marin L., *Polymer networks based on formylated polysulfone and chitosan: preparation and characterization*, IasiCHEM Conference 6th Edition, Iași, România, 31 octombrie – 1 noiembrie **2024**.
7. **Dumbrava O.**, Ailincăi D., Anisie A., Marin L., *A new approach for obtaining materials based on formylated polysulfone and chitosan linked by imine or amine units*, 5th Edition of Scientific Communications of Young Researchers - Open Door to the Future, MacroYouth 2024, Iași, România, 15 noiembrie **2024**.
8. Serbezeanu D., Rosca I., Peptanariu D., Aflori M., Dobos A.M., **Dumbrava O.**, Filimon A., *Performance of the polysulfonic fibrous membranes in biomedical applications: Cell-material interaction and antimicrobial activity*, Congresul Internațional „Pregătim Viitorul Promovând Excelența, Ediția a XXXIV-a”, Iași, România, 29 februarie – 3 martie **2024**.
9. Filimon A., Serbezeanu D., Peptanariu D., **Dumbrava O.**, Balan V., Milos E., Lupa L., *Quaternized polysulfones/cellulose acetate phthalate/ polyvinylidene fluoride electrospun membranes: an approach towards bioactive materials for biomedical applications*, 16th Edition of the Conference ”New Trends in Chemistry Research”, Timișoara, România, 18 – 20 septembrie **2024**.

Bibliografie selectivă

- [1] Zhang S, Zhou J, Wang Z, Xia J, Wang Y. Preparation of polysulfone-based block copolymer ultrafiltration membranes by selective swelling and sacrificing nanofillers. *Front Chem Sci Eng*, pp. 745–754, 2022.
- [2] Mamah SC, Goh PS, Ismail AF, Suzaimi ND, Yogarathinam LT, Raji YO, El-badawy TH. Recent development in modification of polysulfone membrane for water treatment application. *J Water Process Eng*, pp. 101835, 2021.
- [3] Dumbrava O, Filimon A, Marin L. Tailoring properties and applications of polysulfone membranes by chemical modification: Structure-properties-applications relationship. *Eur Polym J*, pp. 112316, 2023.
- [4] Ulrich S, Laguecir A, Stoll S. Titration of hydrophobic polyelectrolytes using Monte Carlo simulations. *J Chem Phys*, pp. 094911, 2005.
- [5] Flory PJ, Fox TG. Treatment of Intrinsic Viscosities. *J Am Chem Soc*, pp. 1904–1908, 1951.
- [6] Huggins ML. The Viscosity of Dilute Solutions of Long-Chain Molecules. IV. Dependence on Concentration. *J Am Chem Soc*, pp. 2716–2718, 1942.
- [7] Wolf BA. Polyelectrolytes Revisited: Reliable Determination of Intrinsic Viscosities. *Macromol Rapid Commun*, pp. 164–170, 2007.

- [8] Eskin VY, Baranovskaya IA, Khudaiberdiev US. On comparative interpenetration of macromolecules in various solvents. *Polym. Sci. USSR*, pp. 404–410, 1986.
- [9] Jain S, Nehra M, Kumar R, Dilbaghi N, Hu TY, Kumar S, Kaushik A, Li C zhong. Internet of medical things (IoMT)-integrated biosensors for point-of-care testing of infectious diseases. *Biosens Bioelectron*, pp. 113074, 2021.
- [10] Jiang X, Yao Y, Tang W, Han D, Zhang L, Zhao K, Wang S, Meng Y. Design of dental implants at materials level: An overview. *J Biomed Mater Res A*, pp. 1634–1661, 2020.
- [11] Qu Y, McGiffin D, Hayward C, McLean J, Duncan C, Robson D, Kure C, Shen R, Williams H, Mayo S, Thissen H, Marasco S, Zimmet A, Negri J, Jansz P, Dhital K, Kaye DM, Peleg AY. Characterization of infected, explanted ventricular assist device drivelines: The role of biofilms and microgaps in the driveline tunnel. *J Heart Lung Transplant*, pp. 1289–1299, 2020.
- [12] Devine R, Douglass M, Ashcraft M, Tayag N, Handa H. Development of Novel Amphotericin B-Immobilized Nitric Oxide-Releasing Platform for the Prevention of Broad-Spectrum Infections and Thrombosis. *ACS Appl Mater Interfaces*, pp. 19613–19624, 2021.
- [13] Vitale RG, Afeltra J, de Hoog GS, Rijs AJ, Verweij PE. In vitro activity of amphotericin B and itraconazole in combination with flucytosine, sulfadiazine and quinolones against *Exophiala spinifera*. *J Antimicrob Chemother*, pp. 1297–1300, 2003.
- [14] Lekoane T, Msomi PF. Quarternized polysulfone/ZSM-5 zeolite composite anion exchange membrane separators for aluminum-air battery. *J Appl Polym Sci*, pp. e54006, 2023.
- [15] Ailincai D, Gavril G, Marin L. Polyvinyl alcohol boric acid – A promising tool for the development of sustained release drug delivery systems. *Mater Sci Eng C*, pp. 110316, 2020.
- [16] Singh D, Dilip Saoji S. The Role of Surface Energy and Wettability in Polymer-Based Drug Delivery Systems: Enhancing Bioadhesion and Drug Release Efficiency. *J Macromol Sci Phys*, pp. 1–8, 2024.
- [17] Leung AKC, Lam JM, Leong KF, Hon KL, Barankin B, Leung AAM, Wong AHC. Onychomycosis: An Updated Review. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*, pp. 32–45, 2020.
- [18] Akhtar N, Sharma H, Pathak K. Onychomycosis: Potential of Nail Lacquers in Transungual Delivery of Antifungals. *Scientifica (Cairo)*, pp. 1–12, 2016.
- [19] Nikhath M, S S. Formulation and Evaluation of Nail Drug Delivery System of Anti Fungal Drug. *Asian J Pharm Res Dev*, pp. 44–52, 2022.
- [20] Ailincai D, Bercea M, Rosca I, Sandu IA, Marin L. Antimicrobial chitosan-based hydrogels: A novel approach to obtain sanitizers. *Carbohydr Polym*, p. 123288, 2025.
- [21] Khattab A, Shalaby S. Optimized Ciclopirox-Based Eudragit RLPO Nail Lacquer: Effect of Endopeptidase Enzyme as Permeation Enhancer on Transungual Drug Delivery and Efficiency Against Onychomycosis. *AAPS PharmSciTech*, pp. 1048–1060, 2018.
- [22] ISO - ISO 10993-5:2009 - Biological Evaluation of Medical Devices — Part 5: Tests for in Vitro Cytotoxicity, 2009.
- [23] Serbanescu OS, Voicu SI, Thakur VK. Polysulfone functionalized membranes: Properties and challenges. *Mater Today Chem*, p. 100302, 2020.
- [24] Li S, Cui Z, Zhang L, He B, Li J. The effect of sulfonated polysulfone on the compatibility and structure of polyethersulfone-based blend membranes. *J Memb Sci*, pp. 1–11, 2016.

- [25] Choi JH, Jegal J, Kim WN. Fabrication and characterization of multi-walled carbon nanotubes/polymer blend membranes. *J Memb Sci*, pp. 406–415, 2006.
- [26] Bae TH, Tak TM. Effect of TiO₂ nanoparticles on fouling mitigation of ultrafiltration membranes for activated sludge filtration. *J Memb Sci*, pp. 1–8, 2005.
- [27] Zailani MZ, Ismail AF, Goh PS, Abdul Kadir SHS, Othman MHD, Hasbullah H, Abdullah MS, Ng BC, Kamal F, Mustafar R. Immobilizing chitosan nanoparticles in polysulfone ultrafiltration hollow fibre membranes for improving uremic toxins removal. *J Environ Chem Eng*, p. 106878, 2021.
- [28] Liu TM, Xu JJ, Qiu YR. A novel kind of polysulfone material with excellent biocompatibility modified by the sulfonated hydroxypropyl chitosan. *Mater Sci Eng C*, pp. 570–580, 2017.
- [29] Yasir AT, Benamor A, Hawari AH, Mahmoudi E. Graphene oxide/chitosan doped polysulfone membrane for the treatment of industrial wastewater. *Emergent Mater*, pp. 899–910, 2023.
- [30] Iftime MM, Rosca I, Sandu AI, Marin L. Chitosan crosslinking with a vanillin isomer toward self-healing hydrogels with antifungal activity. *Int J Biol Macromol*, pp. 574–586, 2022.
- [31] Lisa G, Avram E, Paduraru G, Irimia M, Hurduc N, Aelenei N. Thermal behaviour of polystyrene, polysulfone and their substituted derivatives. *Polym Degrad Stab*, pp. 73–79, 2003.
- [32] Balau L, Lisa G, Popa MI, Tura V, Melnig V. Physico-chemical properties of Chitosan films. *Cent Eur J Chem*, pp. 638–647, 2004.
- [33] Nistor A, Stiubianu G, Racles C, Cazacu M. Evaluation of the Water Sorption Capacity of Some Polymeric Materials by Dynamic Vapour Sorption. *Materiale Plastice*, pp. 33–37, 2011.
- [34] Ren D, Yi H, Wang W, Ma X. The enzymatic degradation and swelling properties of chitosan matrices with different degrees of N-acetylation. *Carbohydr Res*, pp. 2403–2410, 2005.
- [35] Wan A, Xu Q, Sun Y, Li H. Antioxidant activity of high molecular weight chitosan and N,O-quaternized chitosans. *J Agric Food Chem*, pp. 6921–6928, 2013.
- [36] Chankachang P, Thiansem S, Raksanti A, Koonawoot R, Punyanitya S. Preparation and properties of chitosan/gelatin film containing capsaicinoid for hemostasis and antibacterial. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*, p. 134078, 2024.
- [37] Neuffer MC, McDivitt J, Rose D, King K, Cloonan CC, Vayer JS. Hemostatic Dressings for the First Responder: A Review. *Mil Med*, pp. 716–720, 2004.