



ACADEMIA ROMÂNĂ

ȘCOALA DE STUDII AVANSATE A ACADEMIEI ROMÂNE

ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE CHIMICE

INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARĂ „PETRU PONI” IAȘI

DOMENIUL CHIMIE



OBȚINEREA ȘI CARACTERIZAREA MORFOLOGICĂ A UNOR
GELURI POLIMERE COMPLEXE PENTRU APLICAȚII BIOMEDICALE

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:

ACAD. BOGDAN C. SIMIONESCU

STUDENT – DOCTORAND:

DANIELA CURUȚ (CĂS. RUSU)

2023

ACADEMIA ROMÂNĂ
INSTITUTUL DE CHIMIE MACROMOLECULARĂ „PETRU PONI” IAȘI

Nr. 4611/06.10.2023

Vă facem cunoscut faptul că în ziua de **27 octombrie 2023**, ora **11:00**, în **Sala de conferințe** a Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași, va avea loc susținerea publică a tezei de doctorat **„Obținerea și caracterizarea morfologică a unor geluri polimere complexe pentru aplicații biomedicale”**, autor **Daniela CURUȚ (căs. RUSU)**, în vederea conferirii titlului științific de doctor.

Comisia de doctorat are următoarea componență:

PREȘEDINTE: **CS II Dr. Habil. Marcela MIHAI**
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași

CONDUCĂTOR **Acad. Bogdan C. SIMIONESCU**
ȘTIINȚIFIC: Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din Iași

REFERENȚI: **Prof. Dr. Ing. Constanța IBĂNESCU**
Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași

Prof. Dr. Ing. Teodor MALUȚAN
Universitatea Tehnică „Gheorghe Asachi” din Iași

CS I Dr. Sergiu COȘERI
Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” din 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.

Director,

Dr. Valeria Harabagiu



Valeria Harabagiu

CUPRINS

	Teză/ Rezumat
Listă de abrevieri	5
Introducere. Motivație. Importanță. Obiective.	7/1
PARTEA I. STUDIU DE LITERATURĂ	
Capitolul 1. Polimeri naturali utilizați pentru obținerea hidrogelurilor cu aplicații biomedicale	12
1.1. Celuloza	13
1.1.1. Formele alomorfe ale celulozei	15
1.1.2. Nanoceluloze	17
1.2. Lignina	21
1.3. Dextranul	22
1.4. Pullulanul	23
Capitolul 2. Geluri polimere complexe pentru aplicații biomedicale	25
2.1. Geluri polimere – considerații generale	25
2.2. Hidrogeluri – considerații generale	28
2.2.1. Clasificarea hidrogelurilor	29
2.2.2. Metode de obținere a hidrogelurilor	31
2.2.3. Caracteristicile hidrogelurilor	33
2.3. Microscopia electronică de baleiaj în caracterizarea hidrogelurilor	36
2.4. Hidrogeluri pentru aplicații biomedicale	42
2.4.1. Hidrogeluri pe bază de celuloză	44
2.4.2. Hidrogeluri pe bază de lignină	48
2.4.3. Hidrogeluri pe bază de dextran	48
2.4.4. Hidrogeluri pe bază de pullulan	50
PARTEA a II-a. CONTRIBUȚII PROPRII	
Capitolul 3. Geluri pe bază de celuloză: influența metodei de uscare asupra morfologiei acestora	51/4
3.1. Prepararea gelurilor	52
3.2. Evaluarea morfologiei	52
3.3. Studii de umflare	55
3.4. Sorbția dinamică de vapori de apă	57
3.5. Biocompatibilitatea <i>in vitro</i>	59
3.6. Concluzii	61
Capitolul 4. Hidrogeluri pe bază de alomorfi de celuloză cu proprietăți controlate	63/7
4.1. Prepararea hidrogelurilor	65
4.2. Comportamentul hidrogelurilor la umflare	65
4.3. Investigații morfologice	68

4.4. Analiza prin spectroscopie ATR-FTIR a formelor alomorfe ale celulozei și ale hidrogelurilor corespunzătoare	69
4.5. Cristalinitatea alomorfilor de celuloză și a hidrogelurilor preparate	72
4.6. Evaluarea reologică a hidrogelurilor pe bază de alomorfi de celuloză	75
4.7. Concluzii	82
Capitolul 5. Hidrogeluri ranforsate cu nanocristale de celuloză cu activitate antimicrobiană	84/11
5.1. Optimizarea procesului de obținere a nanoparticulelor de celuloză	85
5.2. Morfologia nanoparticulelor de celuloză	88
5.3. Caracterizare structurală prin spectroscopie FTIR	89
5.4. Studii de cristalinitate a hidrogelurilor	92
5.5. Geluri ranforsate cu nanocristale de celuloză. Studii de umflare	94
5.6. Încorporarea de nanocristale de celuloză. Studii reologice	95
5.7. Încorporarea nanoparticulelor de argint. Caracterizare morfologică	97
5.8. Încorporarea nanoparticulelor de argint. Gradul de umflare	99
5.9. Încorporarea nanoparticulelor de argint. Studii reologice	100
5.10. Activitate antimicrobiană	101
5.11. Concluzii	103
Capitolul 6. Hidrogeluri pe bază de celuloză și lignină modificată: obținere și aplicații	105/15
6.1. Prepararea hidrogelurilor	106
6.2. Studii de umflare	107
6.3. Morfologia hidrogelurilor	110
6.4. Studii ATR-FTIR	113
6.5. Biocompatibilitatea <i>in vitro</i> a hidrogelurilor	120
6.6. Concluzii	121
Capitolul 7. Matrici 3d pentru eliberarea controlată a unor compuși bioactivi cu rol antiinflamator în vindecarea rănilor	123/18
7.1. Prepararea hidrogelurilor	125
7.2. Comportamentul la umflare	126
7.3. Morfologia hidrogelurilor	129
7.4. Încărcarea și eliberarea <i>in vitro</i> a compușilor polifenolici	131
7.5. Studiul ATR-FTIR al hidrogelurilor înainte/după încărcarea cu polifenoli	135
7.6. Citocompatibilitatea hidrogelurilor	141
7.7. Efectul antiinflamator al PF	143
7.8. Citocompatibilitatea și efectul antiinflamator al hidrogelurilor încărcate	144
7.9. Concluzii	147
Capitolul 8. Compoziție și procedeu de obținere a unor materiale superabsorbante pe bază de celuloză și pullulan	149/23
8.1. Prepararea hidrogelurilor	150

8.2. Caracterizare morfologică	151
8.3. Studii de umflare	154
8.4. Evaluarea viabilității celulare	155
8.5. Concluzii	157
Capitolul 9. Partea experimentală	158
9.1. Materiale	158
9.1.1. Polimeri naturali	158
9.1.2. Compuși utilizați pentru teste de încărcare/eliberare de principii active	159
9.1.3. Materiale utilizate pentru teste pe culturi de celule	160
9.2. Metode de preparare	160
9.2.1. Obținerea de geluri pe bază de celuloză	160
9.2.2. Prepararea hidrogelurilor pe bază de alomorfi ai celulozei	161
Obținerea alomorfilor celulozei	161
Prepararea hidrogelurilor pe bază de alomorfi ai celulozei	162
9.2.3. Obținerea hidrogelurilor pe bază de celuloză/CNC, celuloză/CNC/NAg	162
Prepararea nanocristalelor de celuloză (NC)	162
Obținerea suspensiei de nanoparticule de argint	162
Obținerea hidrogelurilor pe bază de celuloză	163
Geluri ranforsate cu nanocristale de celuloză	163
Încorporarea nanoparticulelor de argint	163
9.2.4. Obținerea hidrogelurilor pe bază de celuloză și lignină modificată	164
9.2.5. Obținerea hidrogelurilor pe bază de celuloză și dextran	165
9.2.6. Obținerea hidrogelurilor pe bază de celuloză și pullulan	165
9.3. Tehnici de caracterizare ale hidrogelurilor obținute	166
9.3.1. Determinarea dimensiunii nanoparticulelor și a potențialului Zeta	166
9.3.2. Difrakția de raze X (XRD)	166
9.3.3. Gradul de umflare	167
9.3.4. Microscopie electronică de baleiaj (SEM)	168
9.3.5. Microscopie electronică prin transmisie (TEM)	169
9.3.6. Sorbția dinamică de vapori de apă (DVS)	169
9.3.7. Spectroscopie în infraroșu cu Transformată Fourier (FTIR)	169
9.3.8. Comportamentul reologic	170
9.3.9. Teste de citotoxicitate	171
9.3.10. Testarea activității antimicrobiene	172
9.3.11. Studii de încărcare/eliberare de compuși bioactivi	173
Concluzii generale. Sinteza rezultatelor. Aplicabilitate. Direcții de dezvoltare.	175/26
Activitate științifică	180/29
Bibliografie	184/31

INTRODUCERE. MOTIVAȚIE, IMPORTANȚĂ, OBIECTIVE.

Hidrogelurile sunt definite ca rețele polimere tridimensionale capabile să rețină cantități mari de apă sau fluide biologice fără a se dizolva, menținându-și un anumit grad de integritate structurală. Aceste biomateriale remarcabile beneficiază de proprietăți deosebite și reprezintă alegerea naturală în prepararea de materiale cu aplicații ce aparțin domeniului biomedical, mai ales în dezvoltarea sistemelor de eliberare controlată a medicamentelor, în vindecarea plăgilor cutanate sau în ingineria tisulară. [1, 2]

Hidrogelurile pe bază de polimeri naturali au devenit un subiect "fierbinte" de cercetare al ultimelor decenii, fapt dovedit și de creșterea exponențială a numărului de publicații științifice și brevete pe această temă. Atenția de care se bucură această direcție de cercetare este amplificată de mai multe considerente, legate în principal de faptul că aceste materiale dispun de *i.* un set de caracteristici de înalt interes pentru cercetarea biomedicală: biocompatibilitate crescută, biodegradabilitate reglabilă, biomimetism și lipsă de toxicitate, dar și de *ii.* unele avantaje extrem de atrăgătoare pentru sectorul industrial: biodisponibilitate mare, costuri reduse, amprentă ecologică pozitivă în comparație cu variantele sintetice.

Un element interesant al acestui domeniu este simplitatea aparentă ce derivă din utilizarea unui număr mic de polimeri naturali, cunoscuți și studiați, în producerea unui număr impresionant de materiale cu proprietăți distincte, cu multiple variante de utilizare biomedicală.

Cel mai adecvat exemplu în acest sens este celuloza, folosită frecvent în dezvoltarea de hidrogeluri cu caracteristici controlabile pentru aplicații medicale de complexitate crescută, datorită unui set polivalent de beneficii. [3, 4] Avantajele și dezavantajele utilizării sale în astfel de sisteme poroase tridimensionale sunt completate, respectiv diminuate, de construirea unor combinații cu alte materiale de origine naturală: *i.* lignina, biopolimer cu multiple posibilități de modificare structurală, proprietăți mecanice distinctive, efecte antimicrobiene și antioxidante puternice; *ii.* dextranul, o polizaharidă ramificată cu solubilitate ridicată și flexibilitate reglabilă; *iii.* pullulanul, o polizaharidă liniară cu o bună biodegradabilitate, activitate antivirală și antibacteriană și rezistență sporită la degradarea enzimatică. [5]

În spatele simplității amintite anterior se află o investigație detaliată și complexă a caracteristicilor materialelor și o înțelegere profundă a corelațiilor structură-proprietăți care stau la baza funcțiilor și performanțelor acestora.

Astfel, o mare parte din comportamentul hidrogelurilor este legat în mod direct de organizarea poroasă tridimensională, mai precis de disponerea, mărimea și dispersitatea porilor, de modul în care aceștia sunt distribuiți și interconectați în matricea polimeră. Aceste detalii intime ale arhitecturii hidrogelurilor sunt strâns corelate cu alte proprietăți importante (de exemplu, gradul de umflare, caracteristicile mecanice) și direct responsabile de performanța lor biomedicală (mecanismul de transport, încărcarea și eliberarea principiilor active, creșterea celulară, permeabilitatea nutrienților și a oxigenului). [6, 7] Prin urmare, cantitatea și calitatea

datelor referitoare la caracteristicile arhitecturii poroase, organizarea supramoleculară și morfologia acestor tipuri de materiale, respectiv gradul de relaționare cu informațiile obținute prin alte metode de investigare vor juca un rol decisiv în capacitatea lor ulterioară de a îndeplini un anumit rol funcțional, aplicativ.

Obiectivul principal al tezei de doctorat este proiectarea, obținerea și caracterizarea, cu accent pe elementele de natură morfologică, a unor (hidro)geluri complexe realizate din celuloză sau din celuloză în amestec cu alți polimeri naturali, cu aplicabilitate în domeniul biomedical. Strategia de cercetare a urmat câteva **direcții principale de studiu**:

- evaluarea posibilităților de control a proprietăților unor geluri (hidrogeluri, xerogeluri), în special a porozității acestora, prin alegerea unei metode de preparare adecvată,
- utilizarea formelor alomorfe ale celulozei (celuloza I, II și III) în proiectarea și obținerea unor hidrogeluri cu proprietăți controlabile,
- îmbunătățirea proprietăților mecanice (prin încorporarea nanocristalelor de celuloză) ale unor hidrogeluri pe bază de celuloză cu proprietăți antimicrobiene, induse prin dispersarea de nanoparticule de Ag,
- dezvoltarea și evaluarea exhaustivă a unor arhitecturi bicomponente reticulate, cu caracteristici fizico-mecanice controlabile, plecând de la amestecuri de celuloză și diferiți polimeri naturali, precum lignină, dextran sau pullulan.

Teza este structurată în două părți, ce includ nouă capitole distincte.

Partea I, structurată în două capitole, reprezintă un studiu de literatură referitor la stadiul actual al cunoașterii științifice din domeniul tezei:

Capitolul 1 face referire la elementele definitorii ale polimerilor naturali utilizați drept materie primă pentru obținerea hidrogelurilor cu posibile aplicații biomedicale: celuloza (inclusiv formele sale alomorfe și nanocelulozele), lignina, dextranul și pullulanul.

Capitolul 2 este dedicat unei analize teoretice a reperelor conceptuale ale tezei: *i.* cele mai importante aspecte referitoare la gelurile polimere; *ii.* hidrogeluri polimere: clasificare, metode de obținere, caracteristici; *iii.* importanța evaluării morfologice a hidrogelurilor cu ajutorul microscopiei electronice de baleiaj, exemple reprezentative; *iv.* principalele aplicații biomedicale ale hidrogelurilor pe bază de celuloză, lignină, dextran și pullulan (exemplificate cu precădere pentru domeniile ingineriei tisulare și eliberării controlate de principii active).

Partea a II-a, formată din șapte capitole, încorporează contribuțiile originale ale autorului, conform direcțiilor de cercetare prezentate mai sus:

Capitolul 3 cuprinde un studiu referitor la geluri pe bază de celuloză cu diferite grade de reticulare, utilizând metode distincte de preparare. Scopul principal a fost de a identifica parametri adecvați în vederea obținerii unor rețele tridimensionale (3D) cu porozitate controlată, care să constituie matrici suport în eliberarea de medicamente. Au fost stabilite o serie de corelații între caracteristicile morfologice ale gelurilor pe bază de celuloză și densitatea, capacitatea de sorbție, gradul de umflare și viabilitatea celulară a acestora.

Capitolul 4 prezintă obținerea și caracterizarea unor hidrogeluri plecând de la diferite forme alomorfe ale celulozei, pentru realizarea unor materiale 3D cu proprietăți controlabile, de

interes în dezvoltarea de pansamente și în ingineria tisulară. Direcția principală de studiu a fost evaluarea modului în care structura gelurilor influențează caracteristicile hidrogelurilor obținute prin reticulare chimică: structura chimică, morfologia, capacitatea de umflare, gradul de cristalinitate și comportamentul reologic.

Capitolul 5 include prepararea și caracterizarea unor hidrogeluri pe bază de celuloză în care au fost încorporate nanocristale de celuloză, cu rol de ranforsare a matricii, și nanoparticule de Ag, pentru inducerea de proprietăți antimicrobiene, vizând drept aplicație finală matricile suport în vindecarea rănilor. Scopul principal al acestui studiu a fost de a acumula informații referitoare la: *i.* influența procesului de preparare a nanocristalelor de celuloză asupra dimensiunii acestora; *ii.* efectul încorporării nanocristalelor de celuloză asupra proprietăților mecanice ale hidrogelurilor; *iii.* stabilirea efectului concentrației nanoparticulelor de Ag încorporate în matrice asupra activității antimicrobiene a hidrogelurilor obținute.

Capitolul 6 este dedicat studiului unor hidrogeluri superabsorbante pe bază de celuloză și lignină modificată chimic, aplicația avută în vedere fiind eliberarea controlată de principii active. Obiectivul principal a constat în investigarea influenței unor cantități variabile de lignină modificată chimic cu grupări epoxi asupra organizării structurale a rețelelor tridimensionale rezultate, a capacității de umflare, morfologiei și biocompatibilității acestora.

Capitolul 7 prezintă proiectarea, obținerea și testarea preliminară a unei serii de matrici tridimensionale pe bază de celuloză și dextran, în rapoarte gravimetrice diferite, capabile să încapsuleze și mai apoi să elibereze în mod controlat polifenoli de origine naturală, cu aplicabilitate în vindecarea rănilor. Au fost stabilite diferite corelații între componența hidrogelurilor obținute și organizarea morfologică, comportamentul la umflare, citotoxicitatea, retenția și eliberarea de polifenoli, respectiv activitatea antiinflamatorie a materialelor hibride.

Capitolul 8 face referire la prepararea și caracterizarea unor noi hidrogeluri pe bază de celuloză și pullulan, cu scopul de a identifica combinația optimă dintre cei doi polimeri naturali pentru a obține materiale cu porozitate și omogenitate ridicată, cu proprietăți superabsorbante și o bună viabilitate celulară. Aceste hidrogeluri au fost proiectate pentru utilizarea lor ca suporturi tridimensionale funcționale în înglobarea și eliberarea controlată a medicamentelor.

Capitolul 9 prezintă în detaliu materialele, metodele de lucru, tehnicile de investigare și echipamentele folosite pentru caracterizarea diferitelor (hidro)geluri obținute în cadrul studiilor din această teză de doctorat.

Manuscrisul se încheie cu un set de concluzii generale, urmate de trei anexe referitoare la activitatea științifică, referințele bibliografice, respectiv articolele științifice și capitolele de carte publicate în cadrul tezei.

Numerotarea figurilor, graficelor și imaginilor din prezentul rezumat respectă numerotarea din cuprinsul tezei de doctorat.

GELURI PE BAZĂ DE CELULOZĂ: INFLUENȚA METODEI DE USCARE ASUPRA MORFOLOGIEI ACESTORA

În acest studiu au fost proiectate, obținute și caracterizate geluri pe bază de celuloză, cu diferite grade de reticulare, utilizând metode distincte de preparare. Scopul principal a fost identificarea celor mai adecvați parametri pentru a fabrica rețele cu porozitate controlată, care să constituie baza unor matrici suport cu aplicații în eliberarea de medicamente. Accentul a fost pus pe influența metodei de preparare, mai precis pe etapa de uscare (temperatura camerei/lioofilizare) a gelurilor și modificarea temperaturii de înghețare înaintea liofilizării. O a doua direcție de studiu a fost dezvoltarea unor corelații între gradul de reticulare, organizarea morfologică și diferite proprietăți (densitate, capacitate de sorbție, grad de umflare, viabilitate celulară).

3.1. Prepararea gelurilor

Cele trei serii de geluri au fost obținute prin tehnici de preparare distincte folosind celuloză microcristalină (Avicel), care a fost dizolvată în soluții de 8% NaOH, la temperatură scăzută și apoi reticulată chimic cu diferite concentrații de epichelorhidrină (ECH):

- seria de **xerogeluri C.A** - uscare în condiții ambientale, la temperatura camerei
- seria de **hidrogeluri C.B** - înghețare lentă (-30 °C), în congelator, urmată de liofilizare
- seria de **hidrogeluri C.C** - înghețare rapidă (-196 °C), în azot lichid, urmată de liofilizare.

Fiecare serie conține trei probe, notate de la 1 la 3, care diferă între ele prin gradul de reticulare.

3.2. Evaluarea morfologiei

Informațiile referitoare la morfologia gelurilor obținute (densitatea, dimensiunea și distribuția porilor) au variat semnificativ de la o serie de materiale la alta, în directă dependență de concentrația agentului de reticulare, respectiv metoda de preparare și tehnica de uscare.

Analiza SEM a xerogelurilor a scos în evidență o morfologie densă, complet neuniformă, cu o porozitate apropiată de zero din cauza colapsării porilor în timpul uscării lente în aer.

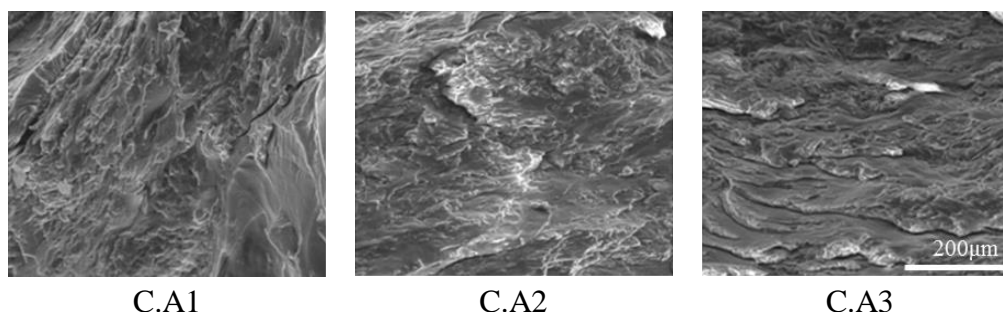


Figura 3.1. Imagini SEM ale xerogelurilor pe bază de celuloză, C.A.

În cazul hidrogelurilor s-a observat o morfologie poroasă, cu pori bine definiți, interconectați și cu nivele de structurare distincte (valori și distribuții dimensionale diferite). Temperatura de înghețare are un impact semnificativ asupra arhitecturilor poroase, obținându-se diferențe dimensionale mari (un ordin de mărime) între cele două serii. Când înghețarea este

realizată la o temperatură de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, formarea gheții se desfășoară lent și se obțin cristale de dimensiuni mari, care determină formarea unor pori mari, cu aspect și dimensiuni neregulate. Înghețarea rapidă la $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ permite menținerea structurii originale, o organizare mai omogenă și densitate mai mare, cu pori mai uniformi, bine definiți, de dimensiuni inferioare.

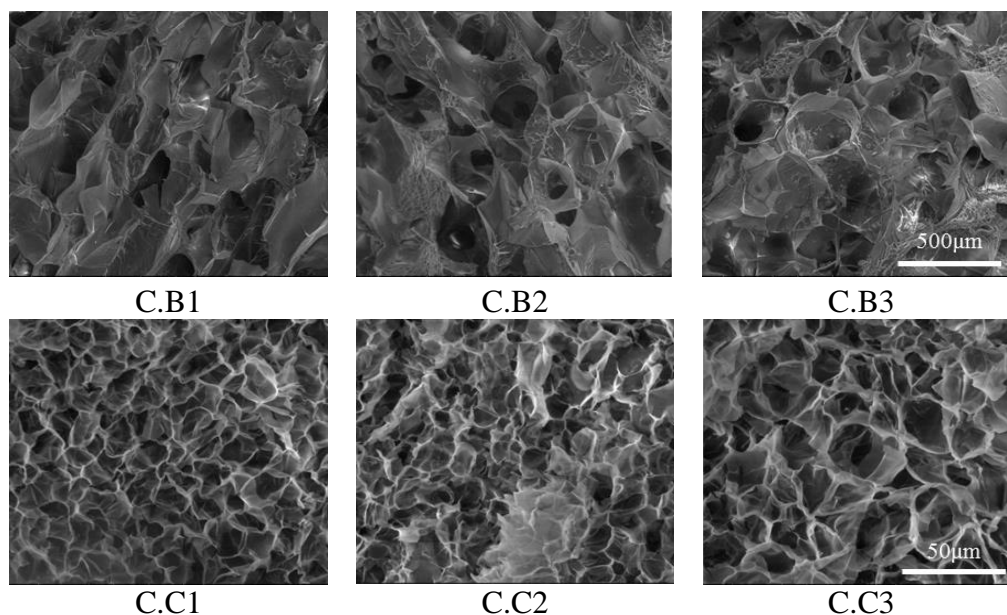


Figura 3.2. Micrografii SEM ale hidrogelurilor pe bază de celuloză: C.B (înghețare în congelator) și C.C (înghețare în azot lichid).

Investigarea distribuției dimensiunii porilor a confirmat aceste observații și a reliefat o creștere ușoară a dimensiunii medii a porilor odată cu creșterea concentrației agentului de reticulare (C.Bi: $150 \div 200\text{ }\mu\text{m}$; C.Ci: $8 \div 15\text{ }\mu\text{m}$) și o scădere a densității acestora.

3.3. Studii de umflare

Studiile de umflare au relevat, pentru toate gelurile, o creștere a gradului de umflare, respectiv a densității, odată cu gradul de reticulare (R), până la o valoare $R=2,5$. Creșterea ulterioară a concentrației agentului de reticulare conduce la o scădere a celor doi parametri.

Concluziile evaluării SEM au fost confirmate de evoluția gradului de umflare specific fiecărei serii (*i.* hidrogelurile au valori Q_{max} cel puțin duble față de xerogeluri; *ii.* hidrogelurile preparate prin înghețare rapidă au grade de umflare mai mari față de omologii lor) și a densității materialelor studiate (*i.* xerogelurile prezintă valori mai mari (16x) ale densității în comparație cu hidrogelurile; *ii.* hidrogelurilor obținute prin înghețare în azot lichid au valori ușor mai scăzute ale densității comparativ cu cele obținute prin înghețare în congelator).

3.4. Sorbția dinamică de vapori de apă

Fiecare tip de gel are un comportament distinct, hidrogelurile prezentând o capacitate mai mare de sorbție (+10%) față de xerogeluri. Pentru acestea din urmă a fost observată o diferență mare între cele trei probe din serie, materialul cu densitatea cea mai mică și cel mai mare grad de umflare prezentând totodată și cea mai mare capacitate de sorbție a vaporilor de apă.

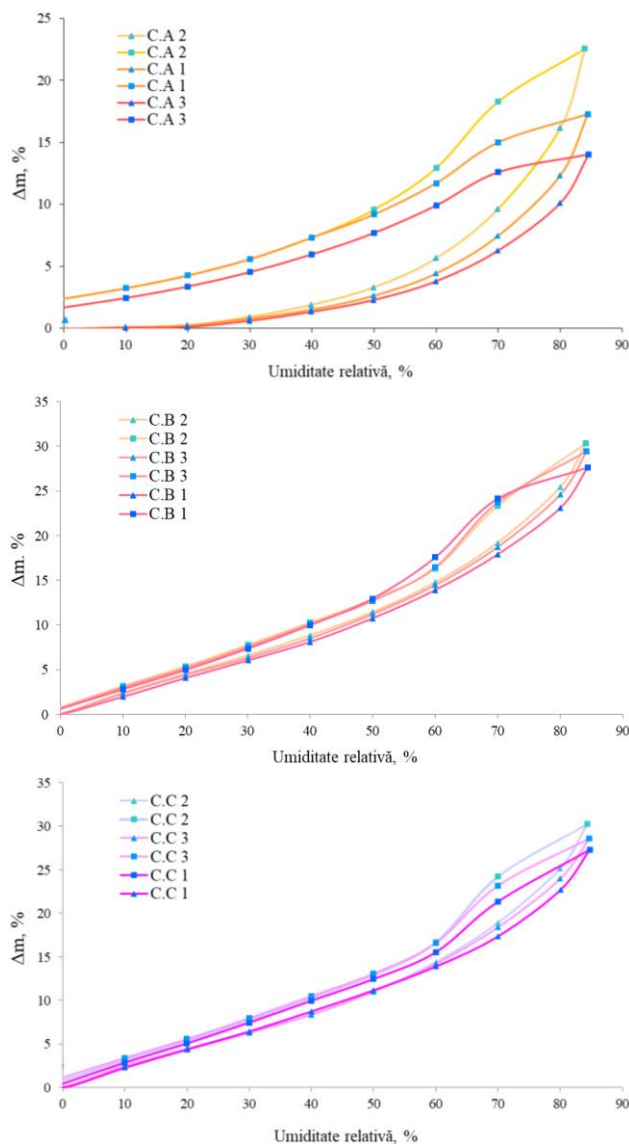


Figura 3.4. Curbele de sorbție/desorbție pentru xerogelurile C.A și hidrogelurile C.B, C.C.

Izotermele hidrogelurilor prezintă curbe de histerezis (umiditate relativă de peste 60%) specifice tipologiei H2, caracteristică arhitecturilor poroase complexe în care interconectivitatea porilor joacă un rol important și atribuită unor diferențe de mecanism ce apar între procesele de condensare și evaporare în cazul porilor de tip fantă cu o distribuție îngustă a diametrului la suprafață, dar cu volum interior mare. [8]

Creșterea gradului de reticulare până la $R=2,5$ determină o creștere a capacității maxime de sorbție a vaporilor de apă, etapă urmată de o scădere a capacității de sorbție la valori mai mari ale gradului de reticulare, în strânsă corelare cu concluziile studiului comportamentului de umflare.

Toate cele trei serii de geluri prezintă o scădere constantă a valorilor suprafeței specifice (A_{BET}) odată cu creșterea gradului de reticulare. Intensitatea acestui fenomen este mai puternică în cazul xerogelurilor față de hidrogeluri, în corelație cu diferențele majore dintre cele trei serii de materiale, în termeni de densitate, capacitate de adsorbție a apei, respectiv dimensiuni și densitate a porilor.

3.5. Biocompatibilitatea *in vitro*

Hidrogelurile din seria C.C (distribuție uniformă a porilor, dimensiune medie adecvată suporturilor pentru creșteri celulare) au fost examinate referitor la citocompatibilitatea față de celulele umane dermice (fibroblaste, NHDF), prin protocolul de testare MTS.

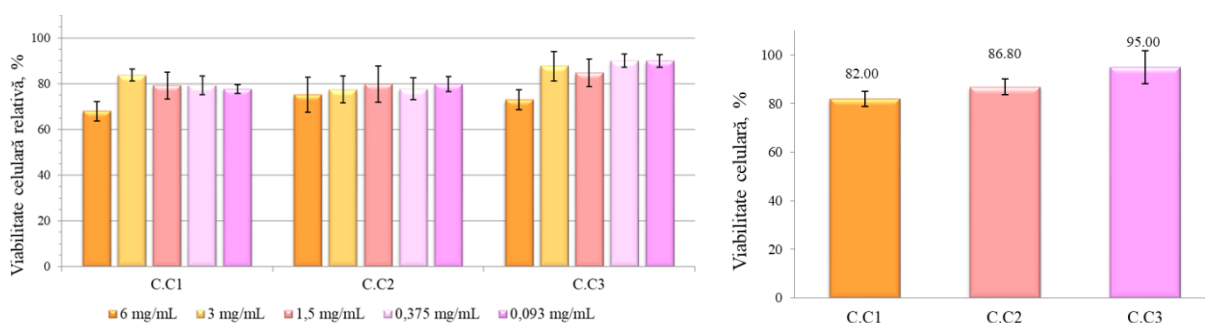


Figura 3.5. Dependența viabilității celulare de gradul de reticulare: (stânga) la concentrații diferite, în intervalul $6 \div 0,093$ mg/mL, (dreapta) la o concentrație de 1,5 mg/mL hidrogel.

Testarea răspunsului citotoxic pentru cinci concentrații de hidrogel a subliniat o creștere a viabilității celulare odată cu creșterea gradului de reticulare și cu scăderea concentrației de hidrogel, fiind observată o dependență directă între aceste variabile mai ales la concentrații medii și mici de hidrogel. Evaluarea citotoxicității la o singură concentrație a evidențiat clar faptul că o creștere a gradului de reticulare conduce la o creștere a viabilității celulare.

CAPITOLUL 4. HIDROGELURI PE BAZĂ DE ALOMORFI DE CELULOZĂ CU PROPRIETĂȚI CONTROLATE

Motivat de potențialul aplicativ vast al hidrogelurilor pe bază de celuloză și plecând de la metoda de dizolvare a celulozei propusă de Isogai & Atalla, [9] acest studiu a avut drept scop proiectarea, obținerea și caracterizarea unor hidrogeluri realizate din diferite forme alomorfe ale celulozei, care să prezinte porozitate, densitate și grade de umflare controlate. Obiectivul principal a fost de a evalua în ce măsură structura gelurilor preparate influențează caracteristicile hidrogelurilor rezultate prin reticulare chimică cu ECH. Plecând de la aceste considerente, au fost dezvoltate corelații între organizarea (hidro)gelurilor și diferite proprietăți ale acestora (structură chimică, morfologie, umflare, cristalinitate și comportament reologic).

4.1. Prepararea hidrogelurilor

Trei hidrogeluri au fost preparate din cei trei alomorfi ai celulozei (celuloza I, II și III). După etapa inițială de umflare în soluție de NaOH de concentrație 8,5%, amestecurile obținute au fost înghețate la $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, timp de 24 de ore. Ulterior decongelării la temperatura camerei, gelurile au fost reticulate chimic cu ECH, la $85\text{ }^{\circ}\text{C}$. Hidrogelurile astfel obținute au fost notate HCl (i: I-III), în funcție de forma alomorfa a celulozei (Ci) utilizată drept material de plecare.

4.2. Comportamentul hidrogelurilor la umflare

Studiile de umflare ale hidrogelurilor HCl (temperatura camerei, în apă distilată), au arătat modificări semnificative, inclusiv vizuale, la trecerea de la starea uscată la cea umflată:

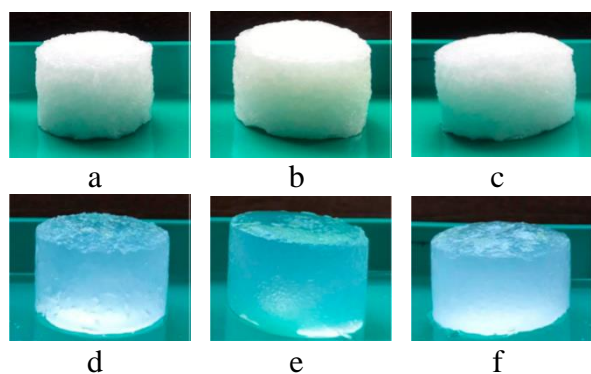


Figura 4.1. Imagini reprezentative ale hidrogelurilor HCl, HCII, HCIII: (a-c) în stare uscată; (d-f) în stare umflată.

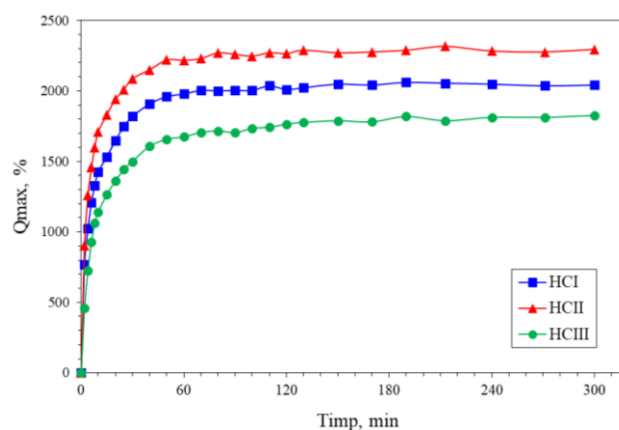


Figura 4.2. Evoluția gradului maxim de umflare al hidrogelurilor, Qmax.

Procesul de umflare are o evoluție rapidă în primele 50 de minute, după care este atinsă o valoare maximă relativ constantă pentru toate formulările. Valorile Q_{eq} (umflarea probelor care nu au suferit niciun proces de uscare) sunt mai mari decât ale hidrogelurilor liofilizate, Q_{max} , datorită fenomenului de cornificare, binecunoscut în domeniu. [10] Ordinea descrescătoare a acestor valori este valabilă pentru ambele grade de umflare: $HCII > HCI > HCIII$.

Evoluția parametrilor cinetici de umflare a subliniat: *i.* o difuzie de tip pseudo-Fickian pentru HCI și HCII ($n_{sw} < 0,5$), în care viteza de difuzie este mai mică decât cea de relaxare a lanțurilor polimere; *ii.* o trecere la o difuzie non-Fickiană în cazul HCIII ($n_{sw} > 0,5$) (transport anormal), bazată pe un mecanism dictat de relaxarea lanțurilor macromoleculare; [11] *iii.* valori k_{sw} mai mici pentru HCI și HCIII; *iv.* o acuratețe ridicată a ecuației folosite și o bună concordanță între datele experimentale și modelul ales (coeficienții de corelare $R^2 > 0,99$).

4.3. Investigații morfologice

Morfologia suprafeței poroase a hidrogelurilor obținute variază semnificativ de la o probă la alta în ceea ce privește omogenitatea, forma, dimensiunea și distribuția porilor: *i.* HCI prezintă pori interconectați ($86,2 \pm 12,7 \mu m$) aproximativ circulari, dispersați într-o matrice compactă, cvasi-omogenă; *ii.* HCII are pori interconectați ($108,2 \pm 15,3 \mu m$) ovoizi, distribuiți mai uniform într-o matrice mai puțin compactă și mai omogenă; *iii.* HCIII prezintă structura poroasă cea mai densă, cu pori ($67,5 \pm 12,6 \mu m$) aplatizați de dimensiuni mici, interconectați și uniform distribuiți. Concluziile analizei SEM se află în strânsă concordanță cu comportamentul la umflare, confirmând dependența directă, clară între morfologie și capacitatea de absorbție a apei.

4.4. Analiza ATR-FTIR a formelor alomorfe ale celulozei și ale hidrogelurilor

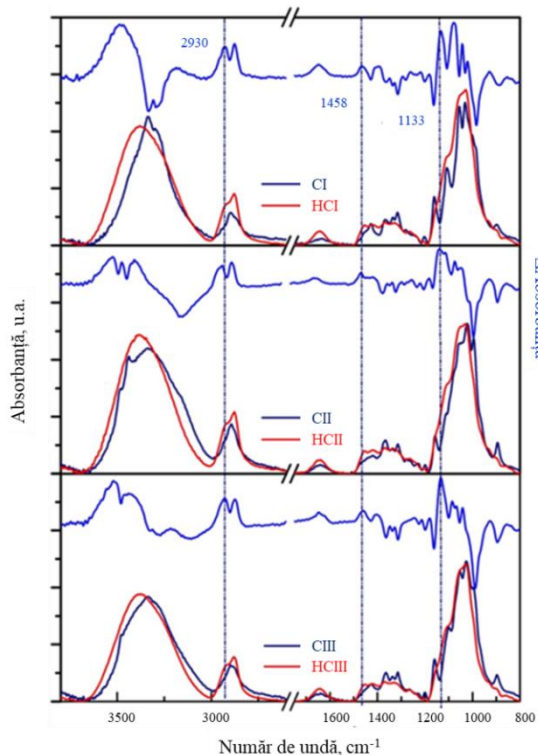


Figura 4.4. Spectrele FTIR ale formelor alomorfe Ci și hidrogelurilor pe baza lor HCi.

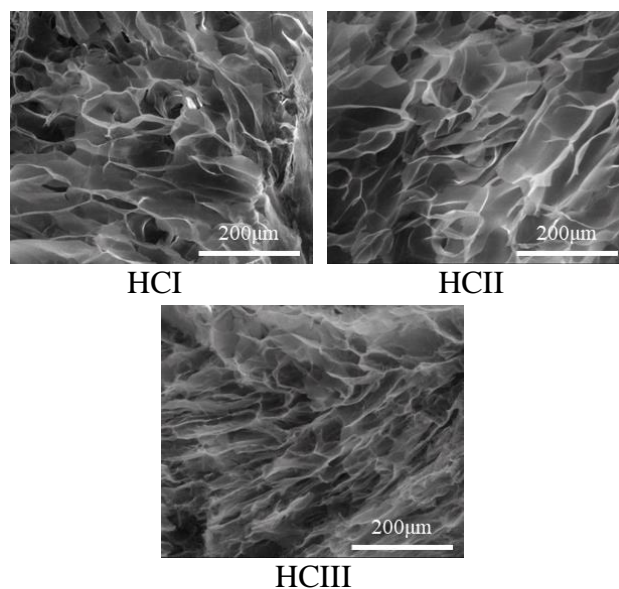


Figura 4.3. Micrografiile SEM ale hidrogelurilor pe bază de alomorfi ai celulozei.

Analiza FTIR comparativă a alomorilor de celuloză (Ci) și hidrogelurilor preparate din acestea (HCi), suplimentată de spectrul diferență [HCi – Ci] pentru fiecare pereche de materiale a permis identificarea unor diferențe structurale (benzi de vibrație de intensitate/formă variate, benzi adiționale distincte) atât între formele amorfe, respectiv hidrogelurile obținute pe baza lor, cât și între alomorful de plecare și hidrogelul corespunzător (inclusiv caracterul hidrofil superior al celor din urmă). Totodată, a confirmat succesul reacției de reticulare și a condus la informații valoroase referitoare la mecanismul acesteia, confirmate și de alte studii [12]: reticularea chimică are loc în principal la alcoolul secundar din poziția C2, respectiv la alcoolul primar din poziția C6 și cu o intensitate mai redusă la alcoolul secundar C3.

4.5. Cristalinitatea alomorilor de celuloză și a hidrogelurilor preparate

Organizarea cristalină a fiecărui tip de alomorf are un tipar de difracție distinct, cu variații specifice ale intensității picurilor de difracție și pozițiilor unghiurilor Bragg. Difractogramele au evidențiat modificări datorate procesului de mercerizare: transformarea completă a alomorfului CI în forma CII și scăderea gradului de cristalinitate a acestuia, respectiv gradul de cristalinitate cel mai mic pentru CIII. [10, 13]

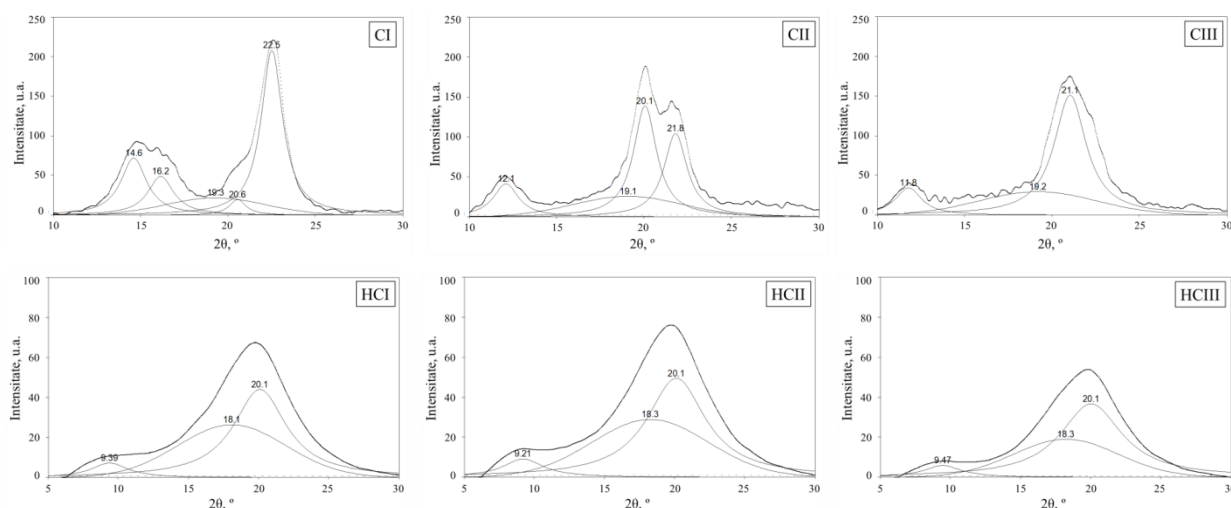


Figura 4.5. Difractogramele de raze X ale formelor amorfe ale celulozei (CI, CII, CIII) și hidrogelurilor corespunzătoare (HCI, HCII, HCIII).

Difractogramele corespunzătoare hidrogelurilor indică: *i.* o scădere a intensităților principalelor picuri cristalografice; *ii.* variații ale planurilor cristalografice ce confirmă succesul procesului de reticulare chimică. Hidrogelurile prezintă aceeași difractogramă specifică celulozei cu un caracter predominant amorf, cu picuri de difracție mai largi și de intensitate mai mică. Reducerea cristalinității față de celuloza inițială provine din distrugerea parțială a structurii ordonate prin întreruperea auto-asocierii și împachetării lanțurilor de celuloză, în urma umflării și a reticulării. Acest proces duce la creșterea hidrofiliei, confirmată și de valorile Q_{max} .

Valorile indicilor de cristalinitate (I_{cr}) și a dimensiunii cristalitelor au validat modificările observate și cristalinitatea inferioară a hidrogelurilor față de alomorfi. Pentru ambele seturi de probe, a fost observată o corelație strânsă între I_{cr} și dimensiunile cristalitelor. [14]

4.6. Evaluarea reologică a hidrogelurilor pe bază de alomorfi de celuloză

Discrepanțele dintre comportamentul de umflare al hidrogelurilor și structura supramoleculară a acestora au impus o analiză aprofundată a eventualelor diferențe ce se petrec în timpul procesului de preparare a hidrogelurilor.

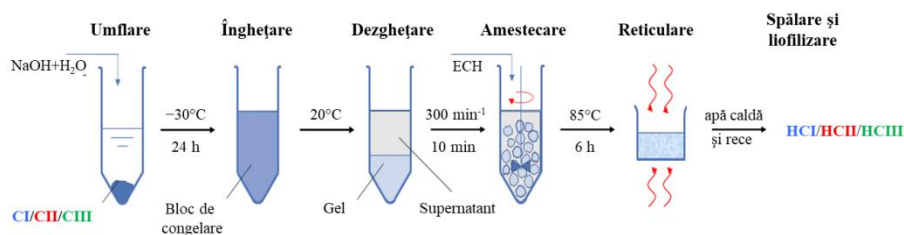


Figura 4.6. Reprezentarea schematizată a procesului de preparare a hidrogelurilor obținute din formele alomorfe a celulozei.

Evaluarea etapei de dizolvare a concluzionat că primele diferențe apar în cadrul fazei de gel rezultată în urma fenomenului de umflare a alomorfilor de celuloză în soluție alcalină apoasă. Cele trei geluri obținute au aspect, volum, consistență, grad de polimerizare și densități distincte.



Figura 4.7. Faza de gel, înainte de reticulare, pentru fiecare alomorf.

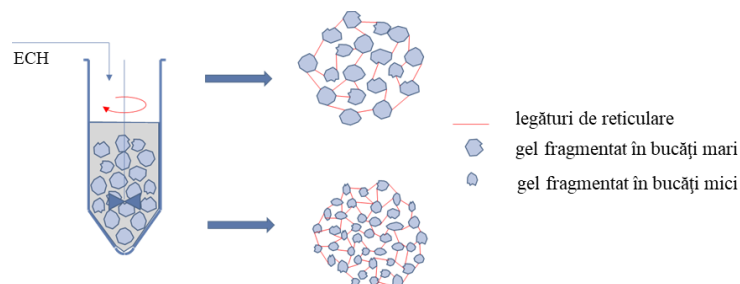


Figura 4.8. Reprezentare schematică a procesului de preparare prin reticularea unor geluri fragmentate.

Aceste diferențe sunt mai apoi reflectate în comportamentul lor în etapa de amestecare cu agentul de reticulare, în regimuri de forfecare controlate, identice, când gelurile de celuloză în NaOH sunt fracturate în fragmente de dimensiuni corelate cu rezistența gelurilor. Rezultatul final este un hidrogel cu o densitate mare de reticulare rezultat din fragmente de gel mici, sau unul cu o densitate inferioară în cazul gelurilor mai rezistente.

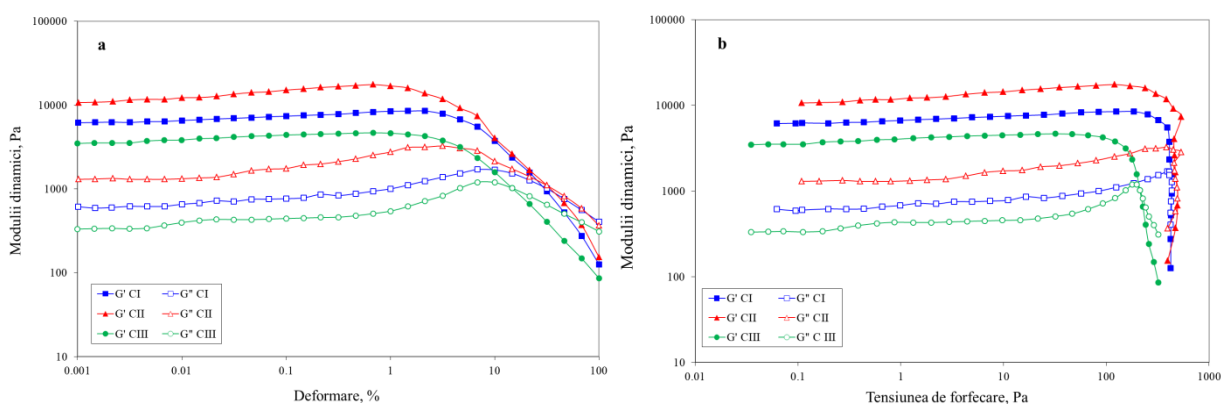


Figura 4.9. Teste reologice cu baleiaj de amplitudine ale gelurilor CI, CII și CIII: dependența G' și G'' de (a) deformarea oscilatorie, (b) tensiunea de forfecare.

Modelul propus a fost validat prin investigații reologice în regim dinamic. Valorile aproximative ale modului de acumulare au confirmat rigiditatea sporită a rețelei în regiunea de vâscoelasticitate liniară în cazul alomorfului CII, urmat de CI și CIII.

Rezultatele testelor reologice cu baleierea amplitudinii relevă: *i.* apariția unui fenomen de colapsare (mai rapid în cazul CII) a rețelei gelurilor la solicitări mai mari; *ii.* un „prag de curgere” în punctul de suprapunere a curbelor G' și G'' , la valori distincte ale deformării, în funcție de rigiditatea materialului; *iii.* un comportament fragil la fragmentare al gelului CII; *iv.* ruperea unor legături individuale din rețeaua tridimensională, dezvoltarea unor microfisuri și evoluția lor spre macrofisuri continue prin întregul material ce determină curgerea. [15]

Testele oscilatorii cu baleiaj de frecvență au subliniat: *i.* comportamentul tipic de gel al materialelor; *ii.* o structurare tridimensională excelentă; *iii.* o reticulare chimică permanentă a hidrogelurilor; *iv.* o structură mai moale pentru HCII și o rigiditate ridicată pentru HCIII.

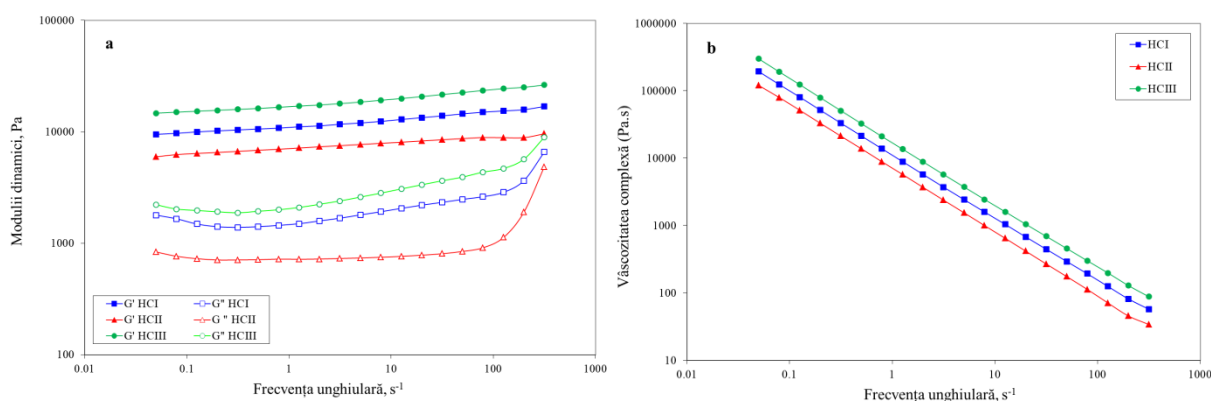


Figura 4.10. Teste oscilatorii cu baleiaj de frecvență ale hidrogelurilor: (a) dependența G' și G'' de frecvența unghiulară, (b) dependența vâscozității complexe de frecvența unghiulară.

Concluziile măsurătorilor reologice în regim dinamic se află în strânsă legătură cu cele dezvoltate în urma investigațiilor SEM, XRD și ale capacității de umflare a hidrogelurilor și construiesc puncte suplimentare de corelare între acestea.

CAPITOLUL 5.
HIDROGELURI RANFORSAȚE CU NANOCRISTALE DE CELULOZĂ
CU ACTIVITATE ANTIMICROBIANĂ

În acest capitol a fost studiată obținerea și caracterizarea unor hidrogeluri pe bază de celuloză în care au fost încorporate mai întâi nanocristale de celuloză, cu rol de ranforsare a matricii, [16] și mai apoi nanoparticule de Ag, pentru proprietățile lor antimicrobiene binecunoscute. [17, 18] Aplicația finală vizată este situată în sfera ingineriei tisulare, drept matrici suport în vindecarea rănilor.

Scopul principal a fost de a oferi informații referitoare la: *i.* influența procesului de preparare a nanocristalelor de celuloză asupra dimensiunii acestora; *ii.* efectul nanocristalelor celulozice asupra proprietăților mecanice ale hidrogelurilor preparate; *iii.* stabilirea corelației dintre concentrația nanoparticulelor de Ag și activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor obținute.

5.1. Optimizarea procesului de obținere a nanoparticulelor de celuloză

Se remarcă o scădere netă a dimensiunii medii a nanoparticulelor de celuloză (N_i , $i: 1\div 4$), atât prin creșterea timpului, cât și a temperaturii de reacție. Aplicarea unui proces de dispersare prin ultrasonare ($N_i.US$) timp de cinci minute a condus de asemenea la o diminuare semnificativă a valorilor celor doi parametri ($N4.US$: 99,6 nm; PDI = 0,255). Creșterea timpului de dispersare nu a condus la o îmbunătățire a rezultatelor.

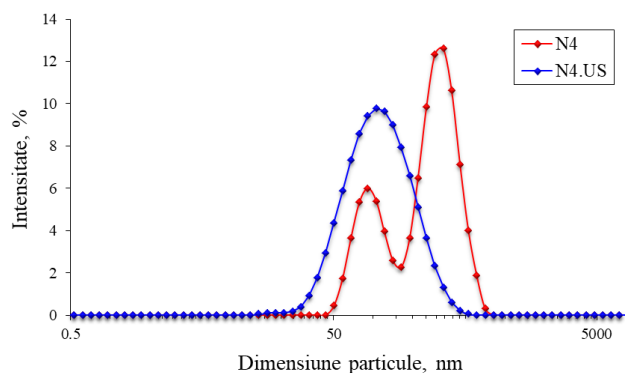


Figura 5.1. Distribuția dimensiunii nanoparticulelor N4/N4.US.

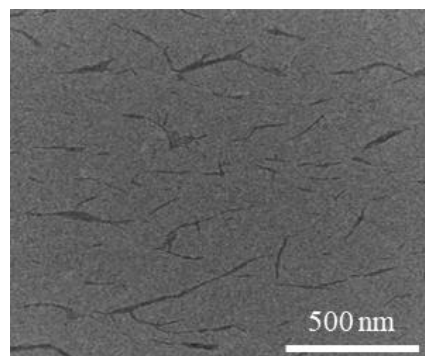


Figura 5.2. Imagine TEM a nanoparticulelor de celuloză N4.US

Forma bimodală a curbelor de distribuție probează tendința de agregare post-hidroliză și prezența aglomerărilor de nanocristale. Ultrasonarea a eliminat acest neajuns, conducând la nanoparticule omogen distribuite, fără aglomerări, după cum a fost confirmat și prin TEM.

Nanoparticulele prezintă valori negative ale potențialului Zeta datorită esterificării grupelor hidroxilice în timpul hidrolizei acide, [19] valori ce se mențin după ultrasonare.

5.3. Caracterizare structurală prin spectroscopie FTIR

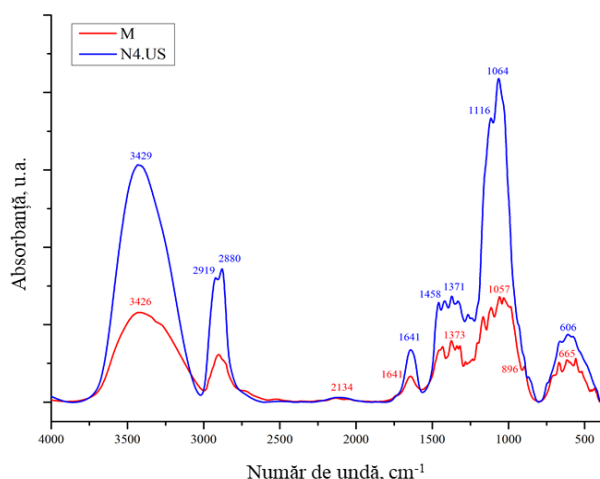


Figura 5.3. Spectrele FTIR pentru M și N4.US.

Spectrul FTIR al celulozei microcristaline (M) prezintă elemente spectrale specifice acestui polimer, cu benzi de vibrație de intensitate/formă variate și confirmă prezența grupărilor sulfat reziduale post-hidroliză. Obținerea nanoparticulelor ($N4.US$) a generat în principal creșterea intensităților anumitor benzi de absorbție, explicate prin apariția unui număr mai mare de grupări hidroxil, cu diferențe ulterioare în densitatea legăturilor de hidrogen. [20]

5.4. Studii de cristalinitate a hidrogelurilor

Hidroliza acidă și ultrasonarea au condus la creșterea în intensitate a picurilor de difracție a nanocelulozei ultrasonate ($N4.US$) față de celuloza microcristalină (M) și, implicit, la majorarea cristalinității probei, confirmată de valorile ICr mai mari (M: 81,5%; $N4.US$: 90,7%).

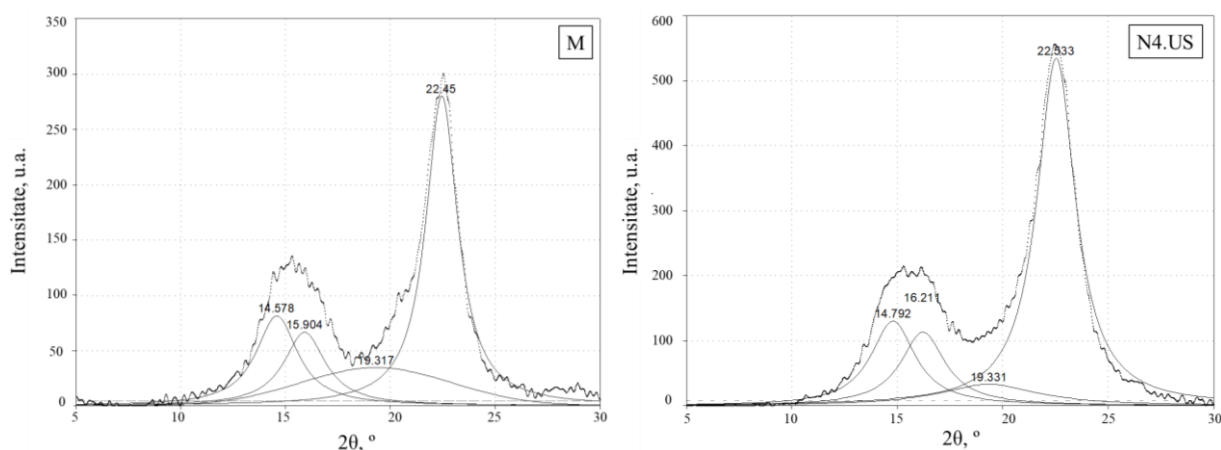


Figura 5.4. Difractogramele de raze X a celulozei microcristaline (M) și a nanocelulozei obținută din celuloză microcristalină (N4.US).

5.5. Geluri ranforsate cu nanocristale de celuloză. Studii de umflare

Nanocristalele de celuloză N4.US au fost încorporate în două concentrații diferite (1%, 3%) în compoziția unor hidrogeluri (C) pe bază de celuloză reticulată cu ECH, conducând la o creștere progresivă a opacității și capacității de absorbție a apei (+14% pentru CN.1, respectiv +2% pentru CN.3) și, în cazul CN.3, la o rigidizare a structurii tridimensionale.

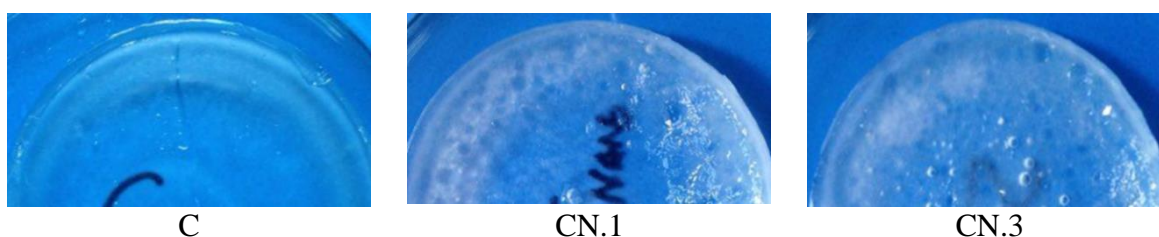


Figura 5.5. Hidrogeluri obținute din celuloză și celuloză/nanocristale de celuloză.

5.6. Încorporarea de nanocristale de celuloză. Studii reologice

Evaluarea reologică a hidrogelurilor ranforsate a evidențiat materiale cu o rețea tridimensională bine structurată, în care domină comportamentul elastic și care au devenit mai rigide și mai rezistente la deformare după dispersarea de nanocristale. [21, 22]

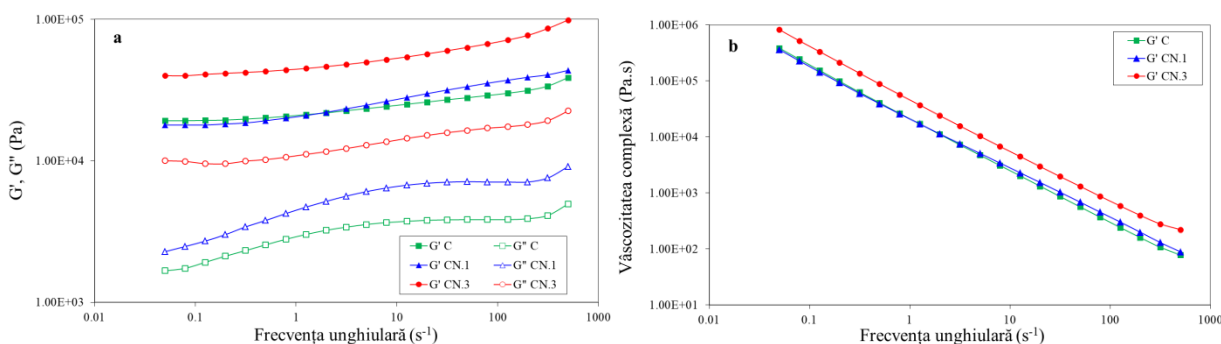


Figura 5.6. Variația: a) G' și G'' ; b) vâscozității complexe cu frecvența a hidrogelurilor.

5.7. Încorporarea nanoparticulelor de argint. Caracterizare morfologică

Micrografiile SEM au relevat rețele poroase tridimensionale cu pori bine definiți, interconectați, cu un aspect relativ uniform distinct, pentru fiecare din cele trei tipuri de materiale

analizate: hidrogel pe bază de celuloză (C), hidrogel ranforsat cu NC (CN.3), hidrogel ranforsat compozit cu nanoparticule de Ag în două concentrații diferite (CN/Ag.0,5; CN/Ag.1).

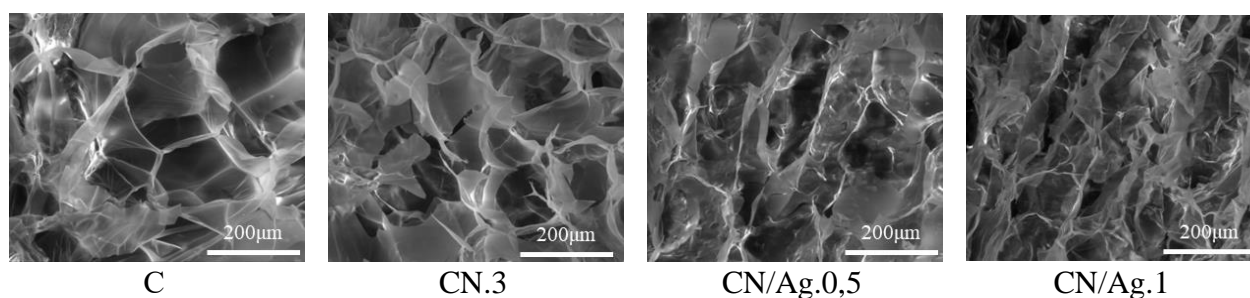


Figura 5.7. Imagini SEM ale hidrogelurilor pe bază de celuloză (C), celuloză/nanoparticule de celuloză (CN.3) și celuloză/nanoparticule celuloză/nanoparticule Ag (CN/Ag.0,5, CN/Ag.1)

Introducerea nanocristalelor de celuloză în matricea hidrogelurilor a determinat o creștere a densității porilor, iar utilizarea nanoparticulelor de Ag a dus la modificări ale organizării morfologice (forma și densitatea porilor, omogenitate), în funcție de concentrația suspensiilor utilizate. Harta de elemente a indicat faptul că nanoparticulele metalice sunt omogen dispersate în matrice, confirmând adsorbția uniformă pe întreaga suprafață a (nano)cristalelor de celuloză.

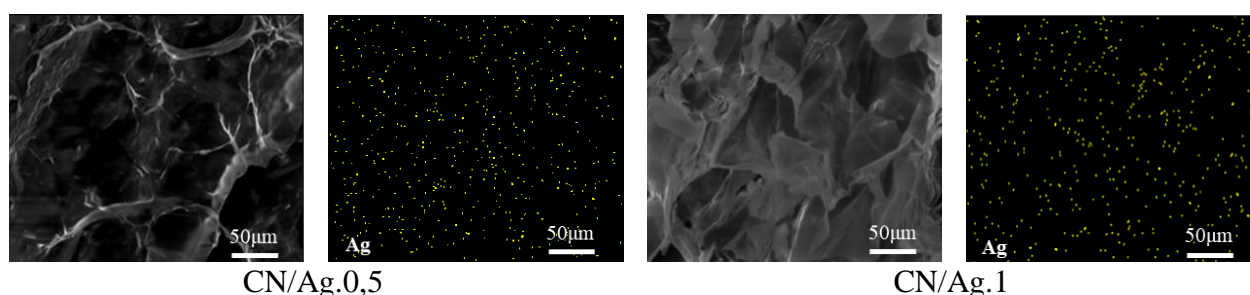


Figura 5.8. Micrografia SEM și harta de elemente a hidrogelurilor CN/Ag.0,5 și CN/Ag.1.

5.8. Încorporarea nanoparticulelor de Ag. Gradul de umflare

Studiile de umflare a hidrogelurilor ranforsate compozite au arătat că majorarea densității porilor și uniformizarea suprafețelor matricii induse de nanoparticulele de Ag au permis o creștere ușoară (+10%), direct proporțională, a capacității de absorbție a apei față de hidrogelurile ranforsate, confirmând astfel observațiile obținute din evaluarea morfologică SEM.

5.9. Încorporarea nanoparticulelor de Ag. Studii reologice

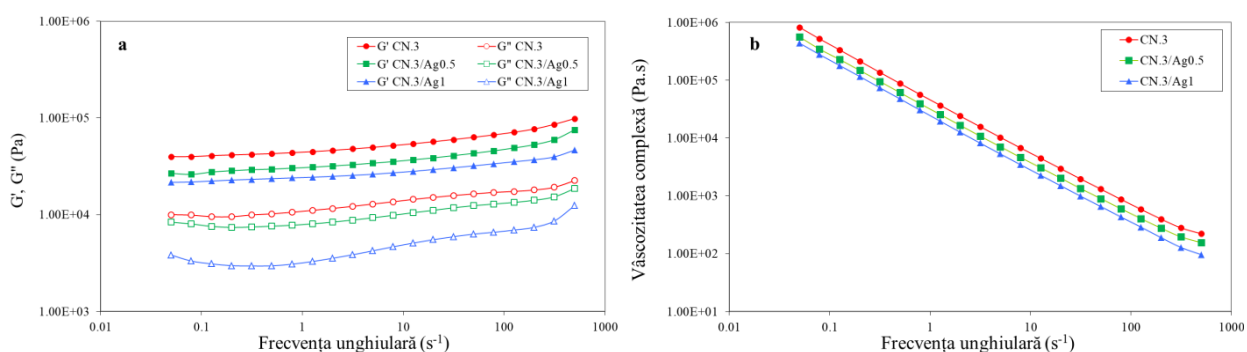


Figura 5.9. Variația: a) G' și G'' ; b) vâscozității complexe, cu frecvența a hidrogelurilor CN/Ag.

Evaluarea vâscoelastică a hidrogelurilor ranforsate compozite a descris comportarea de tip gel a acestor materiale și a evidențiat că o creștere a concentrației de Ag duce la hidrogeluri mai moi și mai puțin rezistente la deformare, cel mai probabil prin împiedicarea formării legăturilor de hidrogen și modificarea morfologiei (pori mai mic și mai subțiri).

5.10. Activitate antimicrobiană

Testarea activității antibacteriene față de *E. Coli*, respectiv *S. aureus* a confirmat proprietățile antibacteriene ale hidrogelurilor compozite, cu o performanță bactericidă superioară la concentrații mai mari (1%) de Ag (76% inhibare vs *E. Coli*; 58% inhibare vs *S. aureus*) și a demonstrat implicit stabilitatea nanoparticulelor metalice la suprafața materialelor.

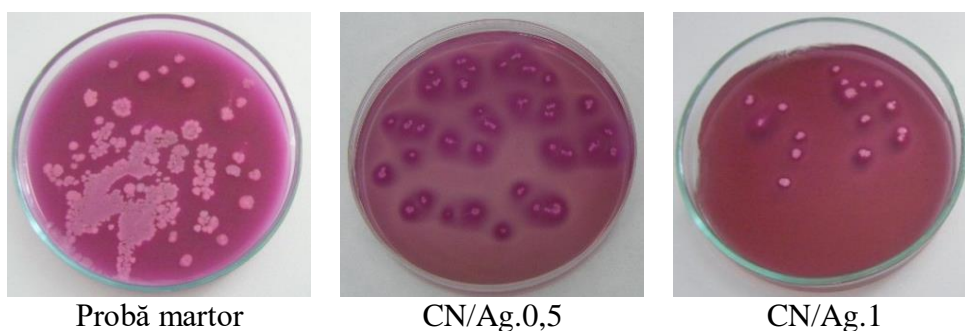


Figura 5.10. Testarea activității antimicrobiene față de *Escherichia coli* la 24h.

CAPITOLUL 6.

HIDROGELURI PE BAZĂ DE CELULOZĂ ȘI LIGNINĂ MODIFICATĂ: OBȚINERE ȘI APLICAȚII

În acest studiu au fost proiectate, preparate și testate preliminar hidrogeluri pe bază de celuloză și lignină modificată chimic, pentru a valida obținerea de materiale cu proprietăți deosebite față de lignina nemodificată. Obiectivul principal a fost evaluarea influenței pe care o are epoxidarea ligninei asupra capacității de absorbție și organizării rețelei poroase, caracteristici ce ar trebui să se transpună mai apoi în performanțe de interes pentru domeniul biomedical. În acest scop, au fost stabilite diverse corelații între structura bicomponentă a hidrogelurilor și proprietățile de bază ale acestora (structură, morfologie, umflare, biocompatibilitate).

6.1. Prepararea hidrogelurilor

Șapte hidrogeluri (CLE_i, *i*: 1÷7) au fost preparate plecând de la amestecuri de celuloză, C și lignină epoxidată, LE, în rapoarte gravimetrice diferite, procentul de celuloză din compoziție scăzând treptat de la 100% (CLE 1) cu câte 10% spre valori mai mici, până la 40% (CLE 7).

6.2. Studii de umflare

Toate hidrogelurile (apă distilată, la 37 °C) au prezentat aceeași modificare în timp a Q_{max}: *i.* o creștere constantă și puternică a valorilor în primele 10 – 20 minute; *ii.* o reducere semnificativă a acestei creșteri în următoarele 100 – 200 minute; *iii.* atingerea unui platou.

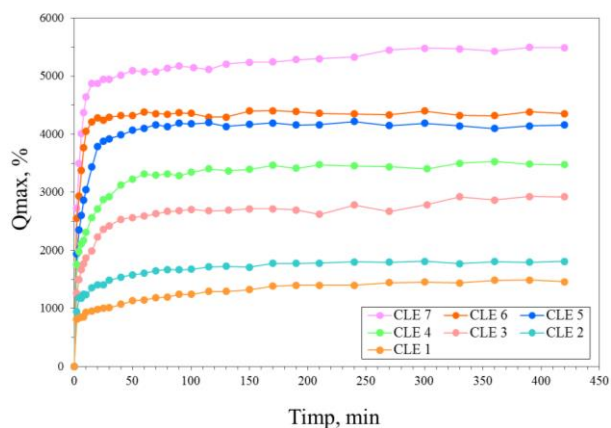


Figura 6.1. Evoluția Q_{max} vs compoziție.

Timpul necesar stabilizării și atingerii Q_{max} și valorile acestuia cresc odată cu majorarea conținutului de LE: de la 5 min și 1460% pentru CLE 1 (100% C) până la 420 min și 5500% pentru CLE 7 (60% LE), prin modificarea gradului de hidrofilie indusă de LE (bogată în grupări polare ce formează legături de hidrogen, care cresc exponențial prin epoxidare), ipoteză susținută de scăderea randamentului fracției de gel odată cu % LE.

Similar, valorile Q_{eq} ale formulărilor înainte de uscare urmează o evoluție crescătoare, dependentă de % LE: de la 1920% pentru CLE 1 până la 10265% pentru CLE 7, confirmând fenomenul de cornificare și caracterul superabsorbant al acestor materiale.

Evaluarea parametrilor cinetici de umflare a subliniat un mecanism inițial de transport bazat pe o difuzie pseudo-Fickiană, ce se modifică cu creșterea % LE către una de tip Fickian, specifică lanțurilor mai mobile, ce permit pătrunderea ușoară a apei în interiorul rețelei. [23]

6.3. Morfologia hidrogelurilor

Micrografiile SEM au arătat în fiecare caz o structură macroporoasă eterogenă cu pori interconectați, cu diferențe semnificative de la o formulare la alta prin modificarea compoziției.

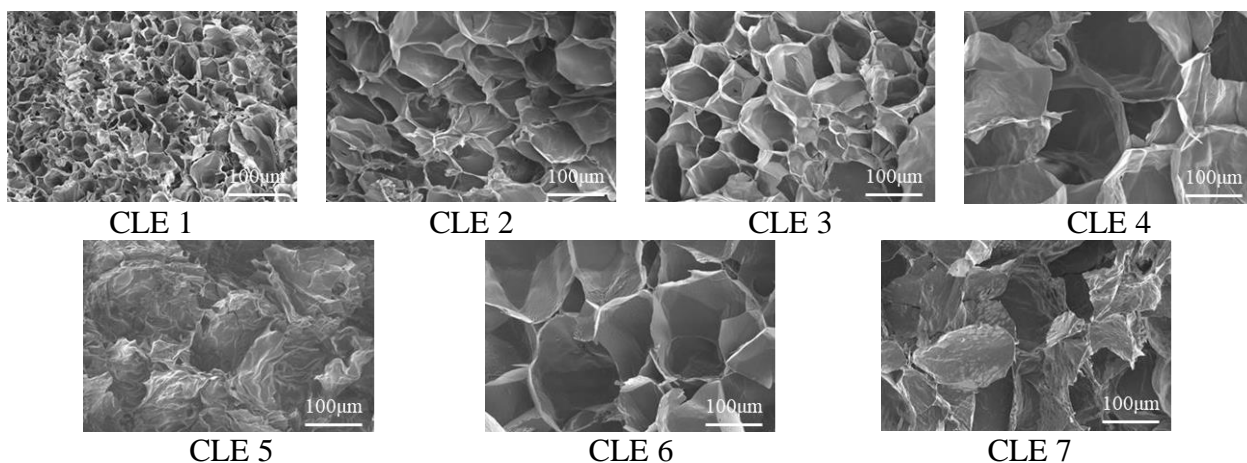
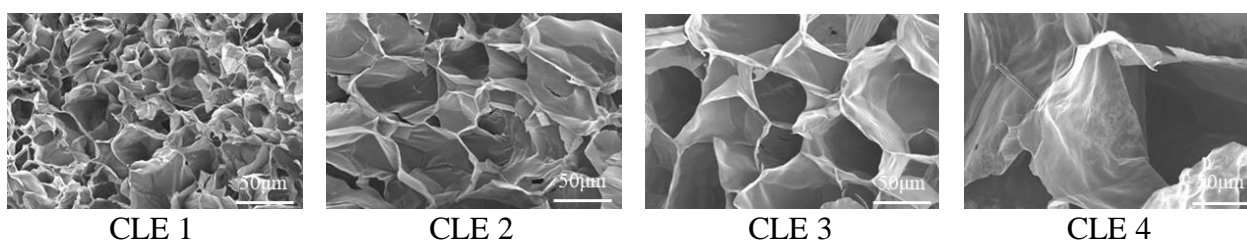


Figura 6.2. Morfologia hidrogelurilor CLE în funcție de compoziția acestora.

Suplimentarea conținutului de lignină are efecte multiple: *i.* o arhitectură poroasă mai eterogenă și mai afânată; *ii.* subțierea netă a pereților porilor din rețeaua tridimensională; *iii.* o structură poroasă mai relaxată, ce poate încorpora o cantitate mai mare de apă (conform Q_{max}).



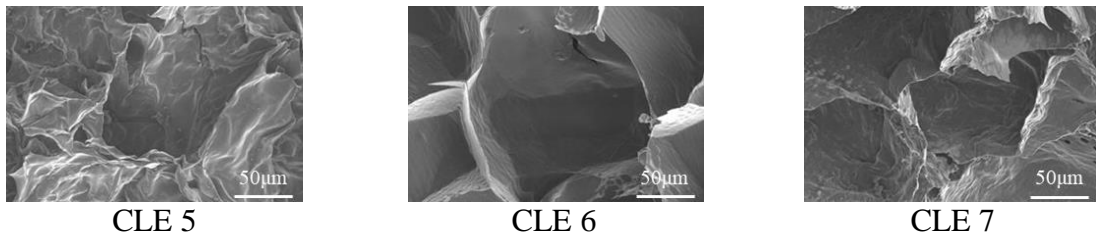


Figura 6.3. Micrografiile SEM ilustrând dimensiunea diferită a porilor hidrogelurilor CLE.

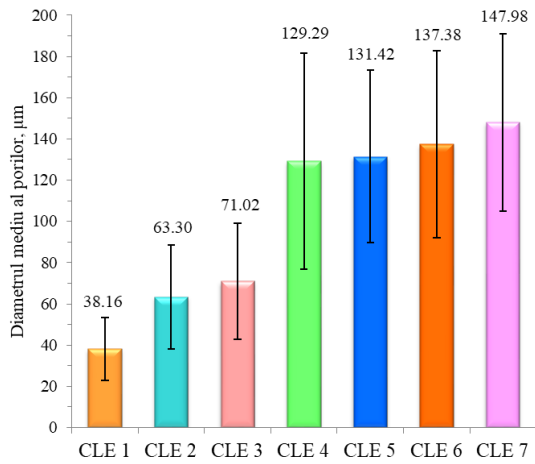


Figura 6.4. Distribuția dimensiunii medii a porilor în hidrogelurile CLE.

Evoluția dimensiunii medii a porilor a indicat o ”rezistență” inițială la expansiune a matricii la concentrații ridicate de celuloză (i : 1÷3), cele mai mari valori fiind obținute pentru formulările cu un conținut LE ridicat (i : 4÷7). CLE 7 are arhitectura poroasă cea mai eterogenă și un maxim de densitate a mărimii porilor în zona 150÷200 μm . Astfel, prin modificarea compoziției pot fi controlate dimensiunea și densitatea porilor din matricea tridimensională și implicit proprietățile materialului final.

6.4. Studii ATR-FTIR

Evaluarea comparativă ATR-FTIR a hidrogelurilor a indicat: *i*. modificarea compoziției formulărilor; *ii*. epoxidarea ligninei; *iii*. formarea punților de reticulare; *iv*. creșterea gradului de asimetrie a rețelei; *v*. similitudini spectrale între cele două componente utilizate; *vi*. elemente distinctive determinate de specificul structural, respectiv organizarea supramoleculară (legături de hidrogen intra- și/sau intermoleculare), în funcție de domeniul spectral analizat.

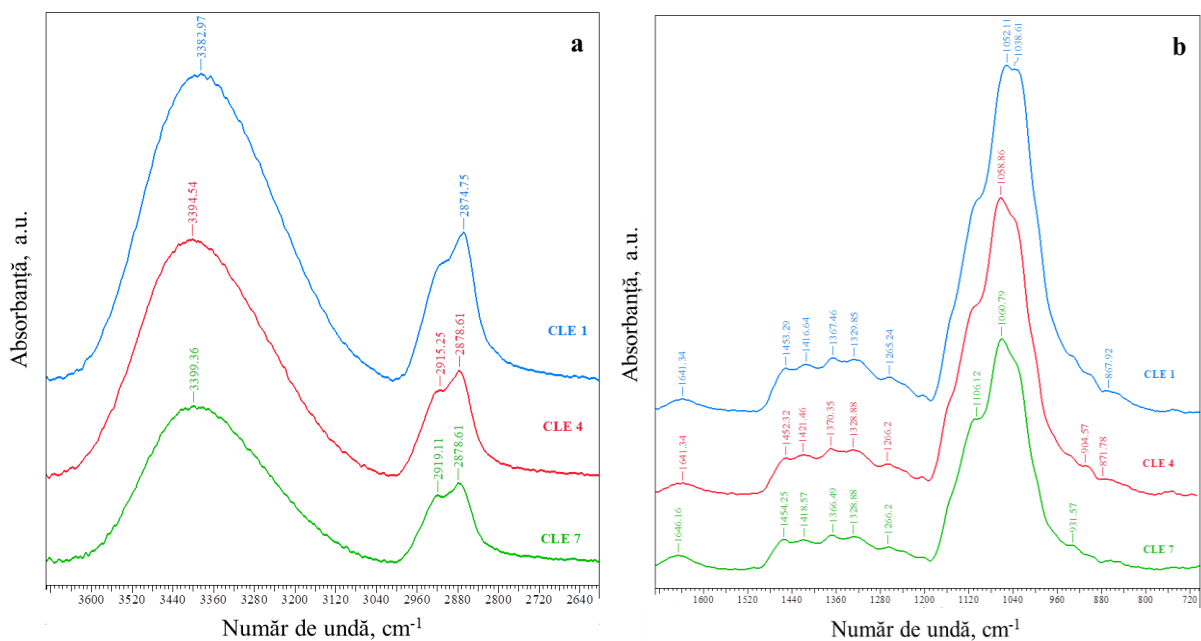


Figura 6.5. Regiunile spectrale (a) 3700–2600 cm^{-1} și (b) 1700–700 cm^{-1} ale hidrogelurilor CLE.

Perturbările post-reticulare în organizarea supramoleculară a polimerilor componenți au fost evaluate cantitativ cu ajutorul ATR-FTIR. S-a constatat că intensitatea legăturilor de hidrogen, indicele total de cristalinitate și indicele de asimetrie scad disproporționat cu conținutul de LE, simultan cu creșterea indicelui de ordine laterală. Această conduită confirmă diminuarea uniformității, a gradului de ordonare și implicit a cristalinității structurii tridimensionale induse de LE, fenomene subliniate și de studiile de umflare, analiza FTIR și evaluarea morfologică.

6.5. Biocompatibilitatea *in vitro* a hidrogelurilor

Investigarea efectului hidrogelurilor (patru concentrații diferite, 1÷4 mg/mL) asupra viabilității celulare a concluzionat că formulările dezvoltate sunt biocompatibile și au o toxicitate *in vitro* față de celulele fibroblaste extrem de redusă.

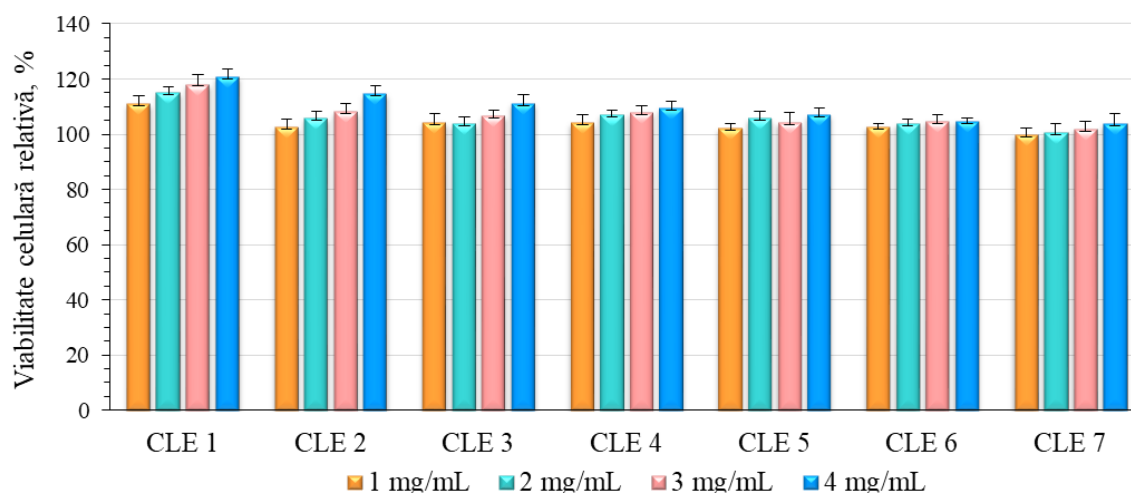


Figura 6.6. Viabilitatea celulelor fibroblaste (% vs control) după cultivarea pe hidrogelurile CLE.

Creșterea cantității de lignină din compoziție conduce la o ușoară scădere (între 10 și 15%, CLE 1 vs CLE 7) a viabilității celulare relative, dar valorile acestora se mențin superioare (peste 100%) grupului de control, indiferent de cantitatea de lignină modificată.

CAPITOLUL 7.

MATRICI 3D PENTRU ELIBERAREA CONTROLATĂ A UNOR COMPUȘI BIOACTIVI CU ROL ANTIINFLAMATOR ÎN VINDECAREA RĂNILOR

În acest studiu au fost dezvoltate și testate preliminar o serie de matrici tridimensionale din celuloză și dextran, capabile să încapsuleze și să elibereze în mod controlat polifenoli, în vederea obținerii unor pansamente cu proprietăți antiinflamatoare, cu aplicabilitate în vindecarea rănilor. Scopul principal a fost evaluarea influenței pe care o are modificarea compoziției formulărilor și identificarea celei mai potrivite combinații în vederea obținerii unor hidrogeluri biocompatibile cu porozitate și capacitate de încapsulare controlate, caracteristici cu un impact important asupra performanțelor antiinflamatorii. Pentru atingerea acestor obiective, au fost realizate corelații între componența hidrogelurilor și organizarea morfologică, comportamentul la umflare, citotoxicitatea, retenția și eliberarea de polifenoli, respectiv activitatea antiinflamatorie.

7.1. Prepararea hidrogelurilor

A fost dezvoltată o serie de șapte hidrogeluri (notate CD xx/yy în funcție de procentul de celuloză (xx), respectiv dextran (yy) din compoziție; hidrogelurile conținând 100% celuloză, respectiv 100% dextran au fost notate "C", respectiv "D"), care au fost preparate plecând de la celuloză microcristalină și dextran, utilizate în rapoarte gravimetrice diferite.

După preparare și caracterizare preliminară, în structura lor au fost încorporați polifenoli (PF), extrași din semințe de struguri de tip *Chambourcin*. [24, 25] Identificarea compușilor fenolici majoritari, rezultați în urma extracției, a condus la următoarea compoziție: 34,3% acid galic, 30,8% quercitină, 18,3% antocianină și 9,3% proantocianidine.

7.2. Comportamentul la umflare

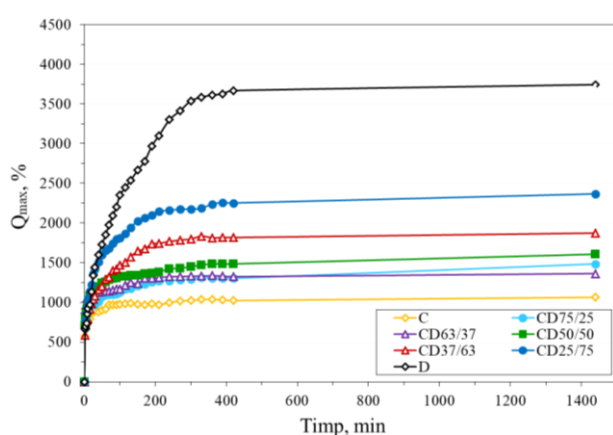


Figura 7.1. Evoluția Q_{max} al hidrogelurilor în funcție de compoziție.

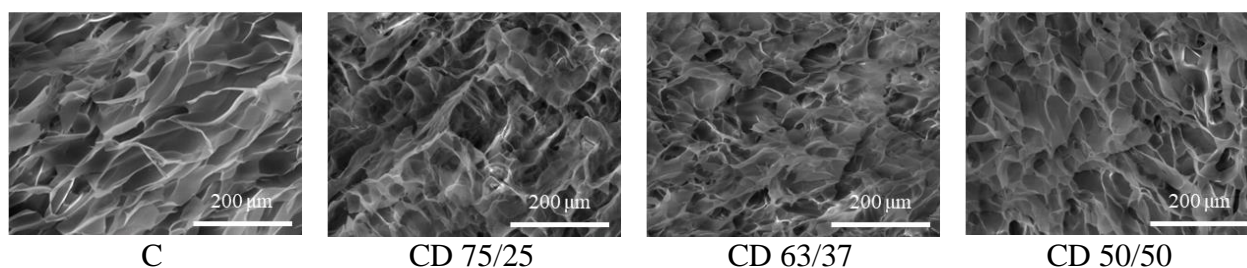
Analiza evoluției în timp a valorilor Q_{max} a arătat pentru toate hidrogelurile bicomponente, CD xx/yy, o creștere constantă la începutul umflării, urmată de atingerea unui platou corespunzător valorii maxime. Aceste etape se manifestă diferit, în intervale de timp dependente de compoziția formulărilor, fiind direct proporționale cu conținutul de polizaharidă mai hidrofilă, D. Gradul de umflare la echilibru înainte de uscare, Q_{eq} , urmează o evoluție similară Q_{max} .

Valorile gradului de umflare în ambele forme de exprimare demonstrează caracterul superabsorbant al acestor materiale, o proprietate necesară pentru utilizarea lor ca pansamente.

Valorile exponentului de difuzie, n_{sw} , mai mici decât 0,45 pentru toate hidrogelurile mono- și bicomponente indică o difuzie de tip pseudo-Fickian (viteză de difuzie < viteză relaxare rețea). Creșterea % D duce către o difuzie de tip Fickian, specifică lanțurilor mai mobile. [23]

7.3. Morfologia hidrogelurilor

Analiza SEM a confirmat comportamentul la umflare și a evidențiat morfologii diferite în funcție de compoziție, materialele C și D reprezentând două cazuri extreme de organizare.



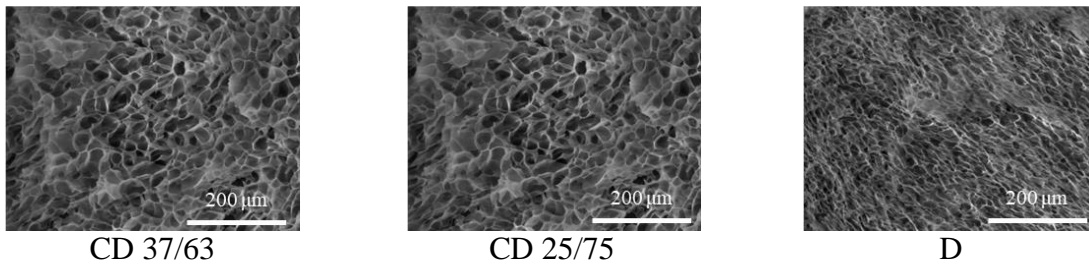


Figura 7.2. Micrografii SEM ale hidrogelurilor pe bază de celuloză și dextran.

Majorarea % D conduce la o scădere a dimensiunii porilor și la morfologii mai omogene, cu pori distribuiți mai uniform și mai interconectați. Forma porilor variază de la una ovoidă pentru formulările cu % C majoritar, la una relativ circulară, când % D este mai mare. Dimensiunea medie a porilor scade de la 66 μm pentru C, la 41,6 μm pentru CD 50/50 și ulterior la 13,5 μm în cazul D. Combinarea cu celuloza a diminuat randamentul scăzut al formulărilor bazate exclusiv pe dextran și a rezolvat deficiențele de natură mecanică ale acestora.

7.4. Încărcarea și eliberarea *in vitro* a compușilor polifenolici

Compușii fenolici (PF) au fost încărcăți prin imersarea hidrogelurilor în soluții alcoolice de PF timp de 72 ore și uscarea prin liofilizare a compușilor hibridi rezultați. A fost identificat un indice de încorporare ce crește odată cu conținutul de dextran din matricea polimeră.

Toate hidrogelurile CD prezintă în primele 24 ore de evaluare o eliberare susținută de PF (de pe suprafața matricii și din interiorul porilor interconectați), care crește constant în funcție de compoziția rețelei până la 14% (C) ÷ 39% (D), după care se stabilizează și atinge un platou. Profilul curbelor indică o eliberare prelungită a PF din matricea de hidrogel timp de peste 72 ore. Aceste rezultate conduc la premisa unui potențial control al eliberării principiului activ și sunt în concordanță cu capacitatea de sorbție și structura morfologică a rețelelor tridimensionale.

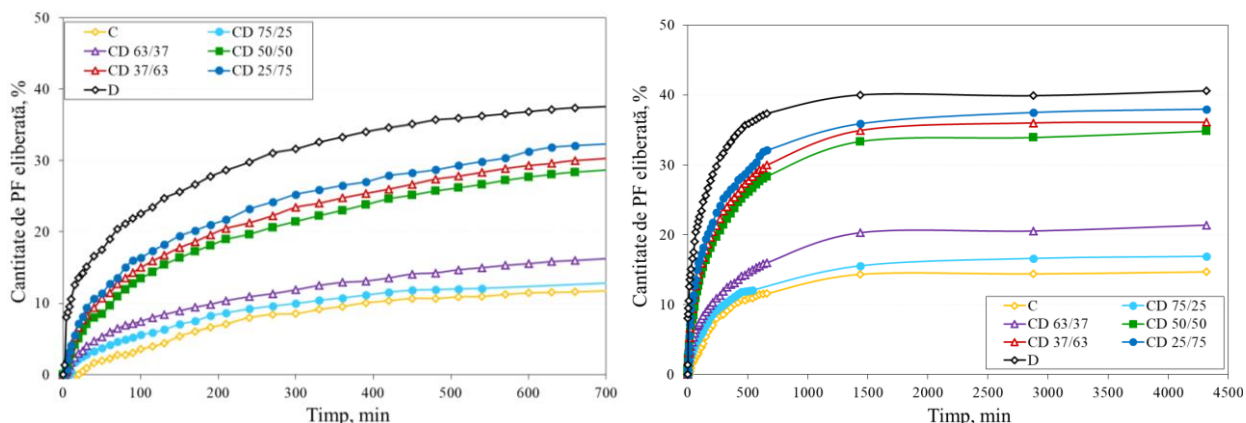


Figura 7.4. Curbele de eliberare ale compușilor polifenolici din hidrogelurile pe bază de celuloză și dextran timp de 12 (prima imagine), respectiv 72 ore (a doua imagine).

Analiza cinetică a profilului de eliberare a PF a indicat: *i.* un mecanism de difuzie de tip pseudo-Fickian pentru formularea D; *ii.* o difuzie pseudo-Fickiană (anormală) pentru hidrogelurile bicomponente; *iii.* o difuzie pseudo-Fickiană (cazul II) pentru formularea C. Astfel, eliberarea de către hidrogelurile ce conțin dextran este controlată de difuzie și profilul poate fi reglat prin schimbarea caracteristicilor materialelor, mai ales a celor de natură morfologică.

7.5. Studiul ATR-FTIR al hidrogelurilor înainte/după încărcarea cu polifenoli

Investigarea comparativă calitativă și cantitativă ATR-FTIR a hidrogelurilor a relevat: *i.* caracteristici spectrale asemănătoare pentru cele două polizaharide de plecare, însoțite de semnale distinctive; *ii.* succesul reacției de reticulare; *iii.* scăderea capacității de reticulare, a intensității legăturilor de hidrogen și a cristalinității hidrogelurilor și formarea unei rețele tridimensionale mai relaxate odată cu creșterea conținutului de dextran din formulări; *iv.* caracterul hidrofil superior al hidrogelurilor cu creșterea % D.

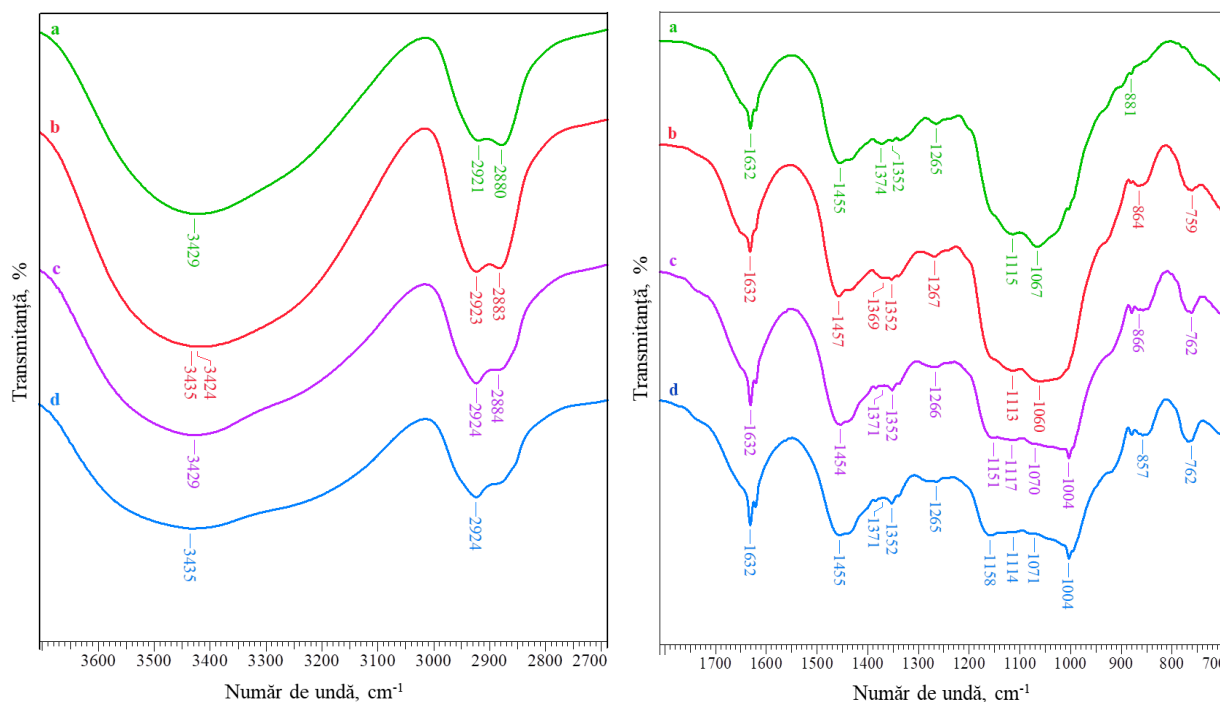


Figura 7.5. Regiunile spectrale 3700–2700 cm⁻¹ și 1800–700 cm⁻¹ ale hidrogelurilor C (a), CD 50/50 (b), CD 25/75 (c) și D (d).

Spectroscopia ATR-FTIR a fost utilizată și pentru a confirma succesul procesului de încorporare a compușilor polifenolici (PF) în matricile poroase, în bună corelație cu gradul de încorporare determinat anterior în cadrul studiilor dedicate înglobării și eliberării de PF.

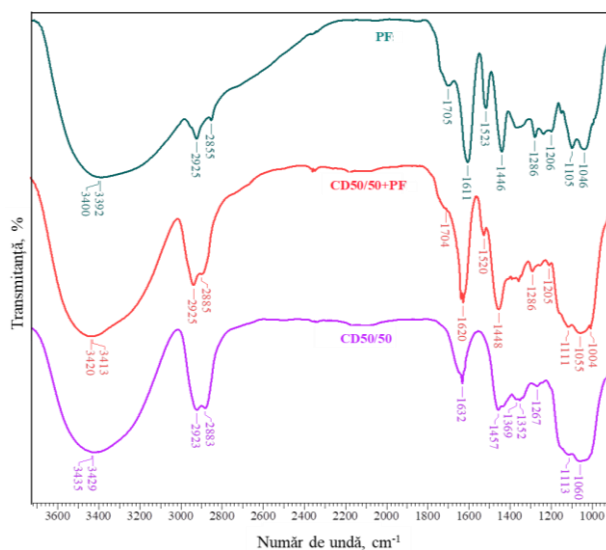


Figura 7.6. Spectrele ATR-FTIR pentru PF, CD 50/50 și CD 50/50+PF.

7.6. Citocompatibilitatea hidrogelurilor

Testele de viabilitate celulară realizate pe fibroblaste și celule endoteliale au arătat că hidrogelurile dezvoltate sunt lipsite de toxicitate, cu valori peste 80% (% vs control) în toate cazurile. Nu au fost observate diferențe majore între matricele bicomponente testate sau o dependență clară, general valabilă, a proliferării celulare de compoziție.

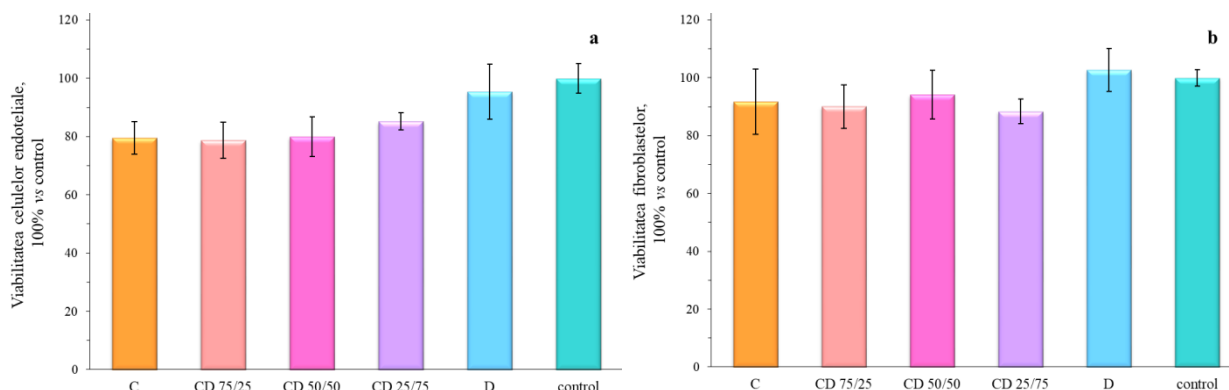


Figura 7.7. Viabilitatea (a) celulelor endoteliale și (b) a fibroblastelor după cultivarea pe hidrogelurile CD, determinată prin metoda XTT.

7.7. Efectul antiinflamator al PF

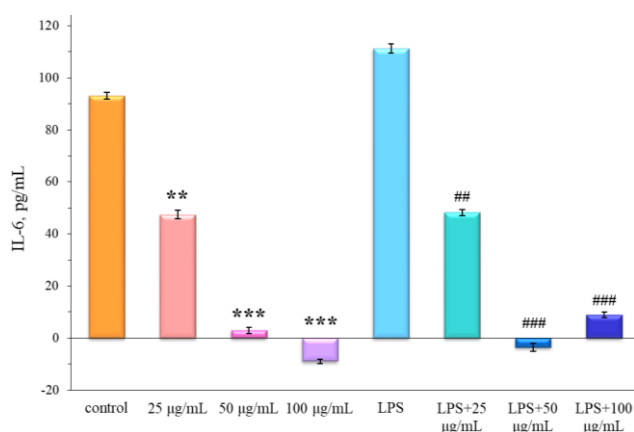


Figura 7.8. Efectul antiinflamator al PF asupra celulelor control și celor activate cu LPS.

Efectul PF într-o inflamație indusă a fost testat folosind lipopolizaharidele (LPS) drept model proinflamator. Rezultatele preliminare (vs citokină inflamatorie IL-6) au confirmat proprietățile antiinflamatorii puternice ale PF, chiar și la concentrații scăzute, atât asupra celulelor control, cât și asupra celulelor activate cu LPS și au permis determinarea unei concentrații optime de PF.

7.8. Citocompatibilitatea și efectul antiinflamator al hidrogelurilor încărcate

Rezultatele testelor de citocompatibilitate (vs lactat dehidrogenaza, LDH) au arătat că, după 3 zile de condiționare, hidrogelurile funcționalizate cu PF au o citotoxicitate similară cu cea a grupului de control, validând caracterul biocompatibil al acestora. La o concentrație de 25 µg/mL PF, s-a obținut o citotoxicitate chiar mai coborâtă (-20%) decât controlul.

Testele ELISA utilizate pentru a evalua activitatea antiinflamatorie au evidențiat: *i.* caracterul antiinflamator semnificativ al dextranului în formulările primare; [26] *ii.* efectul antiinflamator al PF încorporați în hidrogel; *iii.* prin creșterea treptată a % D din formulări, efectul său antiinflamator se suprapune cu activitatea de aceeași natură a PF.

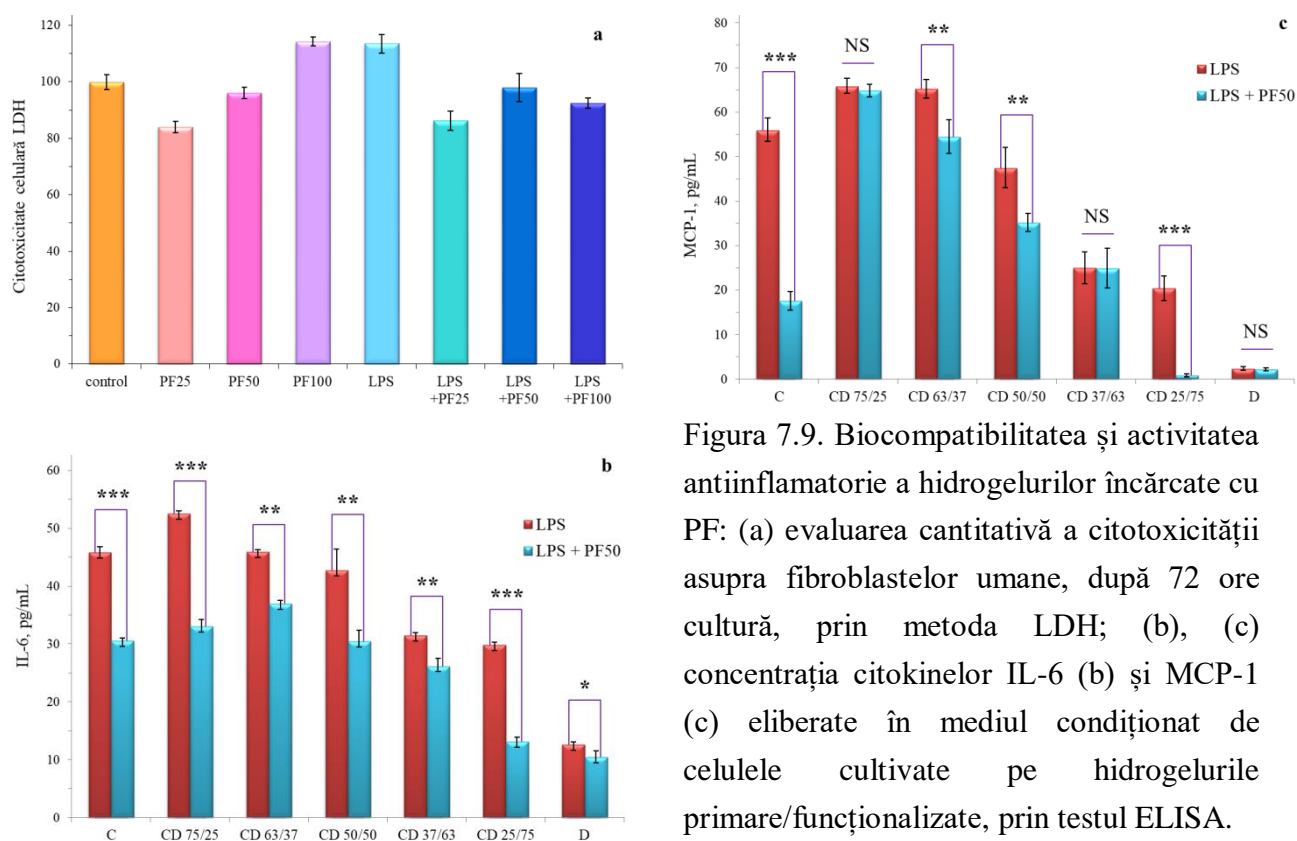


Figura 7.9. Biocompatibilitatea și activitatea antiinflamatorie a hidrogelurilor încărcate cu PF: (a) evaluarea cantitativă a citotoxicității asupra fibroblastelor umane, după 72 ore cultură, prin metoda LDH; (b), (c) concentrația citokinelor IL-6 (b) și MCP-1 (c) eliberate în mediul condiționat de celulele cultivate pe hidrogelurile primare/funcționalizate, prin testul ELISA.

CAPITOLUL 8.

COMPOZIȚIE ȘI PROCEDEU DE OBTINERE A UNOR MATERIALE SUPERABSORBANTE PE BAZĂ DE CELULOZĂ ȘI PULLULAN

Acest capitol face referire la prepararea și caracterizarea unor noi hidrogeluri pe bază de celuloză și pullulan, scopul principal fiind identificarea combinației optime dintre cei doi polimeri, care să permită obținerea unui material cu porozitate și omogenitate ridicate, proprietăți superabsorbante și o bună viabilitate celulară. Aceste hidrogeluri au fost proiectate pentru a fi utilizate ca suporturi tridimensionale funcționale pentru înglobarea și eliberarea controlată a medicamentelor. O analiză exhaustivă a datelor de literatură accesibile nu a identificat studii referitoare la arhitecturi poroase care să încorporeze deopotrivă celuloză și pullulan.

8.1. Prepararea hidrogelurilor

Șapte hidrogeluri (CPI_i, i: % de pullulan din compoziție) au fost obținute din amestecuri de celuloză microcristalină (C) și pullulan (P) de natură comercială, în rapoarte gravimetrice diferite, tratate cu soluții de NaOH la temperatură scăzută și reticulate chimic cu ECH.

8.2. Caracterizare morfologică

Evaluarea SEM a identificat suprafețe cu uniformitate diferită, cu pori bine definiți, interconectați, deosebiți prin aspect, mărime și aranjare, care formează matrici cu grade diferite de omogenitate. O evaluare suplimentară a indicat o dependență a acestor parametri de compoziție: creșterea % P duce la o uniformitate superioară, o scădere a dimensiunii medii a

porilor și a grosimii pereților acestora, rezultând o rețea aparent mai delicată și fragilă, care reușește totuși să își păstreze integritatea fizică chiar și la concentrații mici de celuloză.

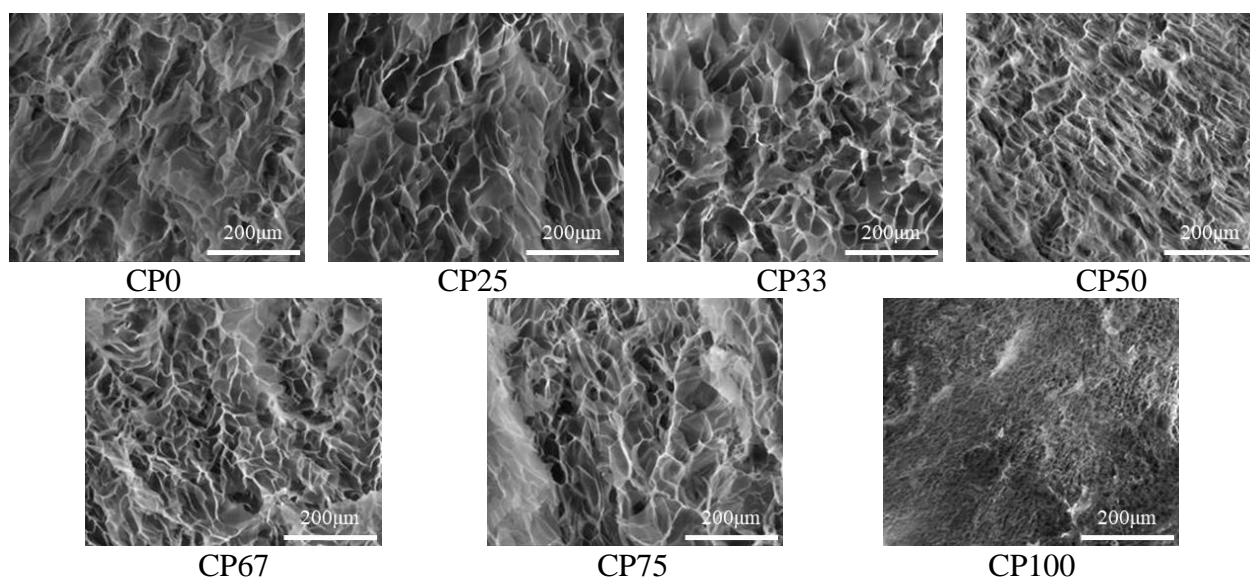


Figura 8.1. Morfologia hidrogelurilor pe bază de celuloză și pullulan.

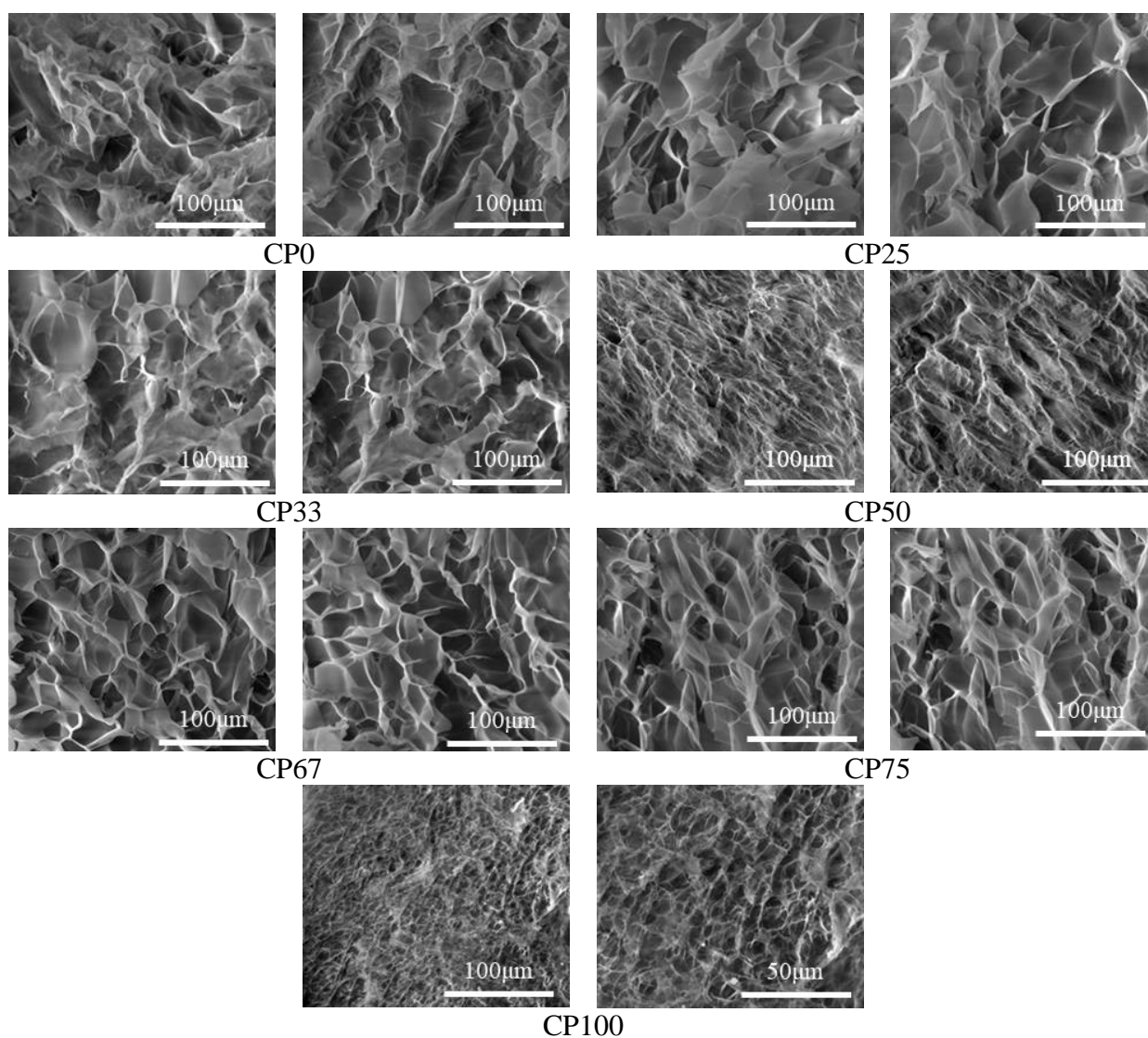


Figura 8.2. Micrografiile SEM ale hidrogelurilor pe bază de celuloză și pullulan.

8.3. Studii de umflare

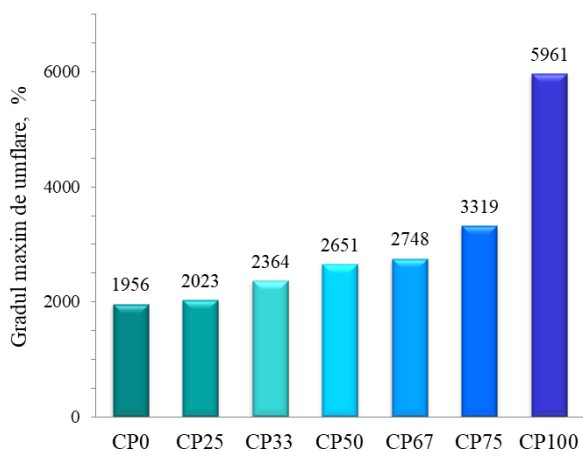


Figura 8.4. Qmax pentru hidrogelurile pe bază de celuloză și pullulan.

Studiile de umflare (apă distilată, temperatura camerei) au evidențiat o creștere a gradului de umflare odată cu % P din matrice, confirmând caracterul superabsorbant al formulărilor cu % P de peste 50%. Rezultatele sunt în strânsă corelație cu evaluarea morfologică: hidrogelurile cu un % P mai mare au o porozitate mai ridicată, cu pori de dimensiuni mici, uniform distribuiți în matrice, cu pereți mai subțiri, capabili să încorporeze o cantitate mai mare de apă.

8.4. Evaluarea viabilității celulare

Răspunsul biologic al hidrogelurilor a fost evaluat (vs fibroblaste, testul MTS) pentru diferite concentrații de hidrogel: indiferent de compoziție, valorile viabilității celulare relative sunt de peste 70%, confirmând o toxicitate *in vitro* redusă și că sunt biocompatibile.

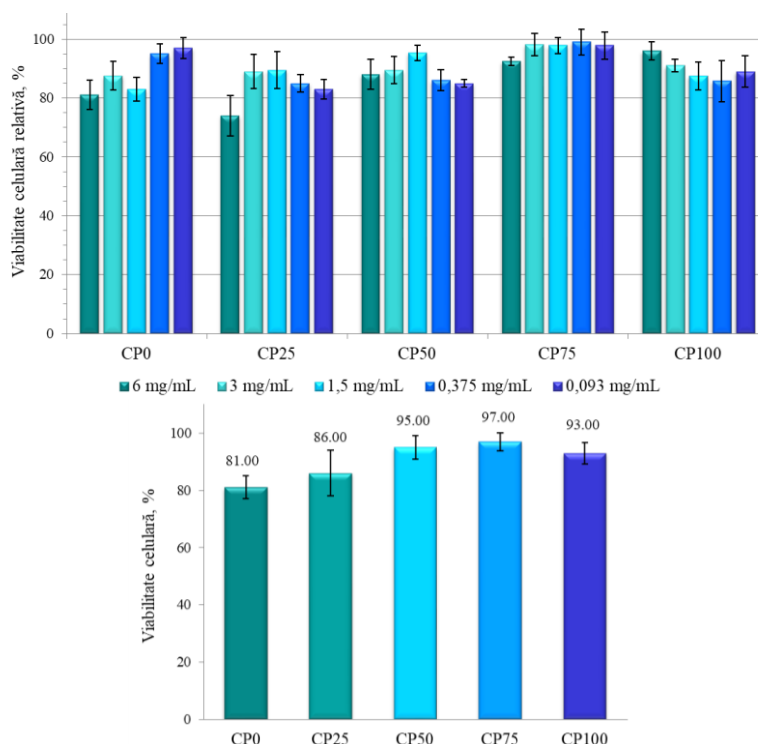


Figura 8.5. Viabilitatea celulară a hidrogelurilor CP: (stânga) la concentrații diferite (6÷0,093 mg/mL), (b) la o concentrație de 1,5 mg/mL hidrogel.

Sistemele bicomponente au o viabilitate celulară superioară materialelor realizate exclusiv din C, mai ales la concentrații mai mari, controlul porozității fiind principala cauză a acestui comportament. [27] La concentrația de 1,5 mg/mL, viabilitatea matricilor crește odată cu % P din compoziție, cel mai bun rezultat (97%) fiind obținut pentru un raport C: P = 25 : 75.

CONCLUZII GENERALE.

SINTEZA REZULTATELOR. APLICABILITATE. DIRECȚII DE DEZVOLTARE.

Realizarea graduală a studiilor din prezenta teză de doctorat, ce au urmat o strategie bazată pe patru direcții majore de cercetare, a condus la identificarea unor elemente esențiale în conceperea și prepararea materialelor poroase tridimensionale pe bază de polimeri naturali. Analiza critică, în contextul stadiului actual, și investigarea detaliată și interdisciplinară a seturilor de date experimentale acumulate au permis formularea următoarelor concluzii generale:

Geluri pe bază de celuloză: influența metodei de uscare asupra morfologiei

- Au fost realizate cu succes trei serii de geluri pe bază de celuloză, variind metoda de preparare și gradul de reticulare a rețelelor polimere;
- Au fost identificate diverse posibilități de control al porozității rețelelor, pe baza unor corelații directe între parametrii procesului de obținere, respectiv gradul de reticulare și microarhitecturile poroase, densitate, comportamentul la umflare și capacitatea de adsorbție ale acestora. În același timp, materialele obținute au prezentat o citocompatibilitate adecvată utilizării lor în domeniul biomedical;
- Gelurile pe bază de celuloză preparate în acest studiu prezintă un potențial incontestabil pentru a fi utilizate într-o varietate largă de aplicații biomedicale, în special ca sisteme de eliberare controlată a principiilor active.

Hidrogeluri pe bază de alomorfi de celuloză cu proprietăți controlate

- A fost preparată o serie de trei hidrogeluri prin reticularea chimică a formelor alomorfe ale celulozei (celuloza I, II și III);
- S-a constatat că etapa intermediară de gel din procesul de preparare a hidrogelurilor, joacă un rol cheie în obținerea unor performanțe mecanice și reologice deosebite, iar metoda de preparare utilizată determină o transformare majoră a organizării cristaline inițiale a formelor alomorfe a celulozei;
- Materialele au prezentat caracteristici morfologice, comportamente la umflare și mecanisme de difuzie distincte, în strânsă legătură cu structura formelor alomorfe a celulozei, fiind evidențiată o dependență directă între gradul de umflare și morfologia structurii poroase;
- Au fost identificate o serie de diferențe structurale între formele alomorfe ale celulozei, respectiv între hidrogelurile preparate din acestea și s-au obținut informații valoroase referitoare la mecanismul procesului de reticulare chimică;
- S-a concluzionat că cele mai importante caracteristici ale acestor hidrogeluri (porozitate, grad de umflare, rezistență) pot fi adaptate prin selecția judicioasă a unei anumite forme alomorfe a celulozei, pentru a satisface seturile de caracteristici specifice a unei anumite aplicații (în acest caz: pansamente și inginerie tisulară).

Hidrogeluri ranforsate cu nanocristale de celuloză cu activitate antimicrobiană

- Au fost preparate cu succes trei tipuri de materiale poroase tridimensionale: hidrogel pe bază de celuloză, hidrogeluri pe bază de celuloză ranforsate cu nanocristale de celuloză și hidrogeluri pe bază de celuloză ranforsate cu nanocristale de celuloză în care au fost încorporate nanoparticule de Ag;
- S-a stabilit o corelație directă între parametrii procesului de obținere a nanocristalelor de celuloză și caracteristicile morfologice ale acestora;
- Încorporarea cu succes a nanocristalelor de celuloză în rețeaua tridimensională a hidrogelurilor a condus la obținerea unor materiale poroase cu un grad superior de umflare, în concordanță cu concentrația agentului de ranforsare;
- Înglobarea de nanoparticule de Ag în masa hidrogelurilor ranforsate a determinat o creștere a nivelului de organizare și omogenitate a acestor sisteme, ce a condus o majorare ulterioară a gradului de umflare;
- Materialele ranforsate cu nanocristale de celuloză și mai apoi îmbogățite cu nanoparticule de Ag au dovedit un comportament tipic gelurilor cu o rețea tridimensională bine structurată, în care domină comportamentul elastic în detrimentul celui vâscos;
- Hidrogelurile ranforsate hibride au prezentat un comportament bactericid dependent de cantitatea de nanoparticule de Ag utilizată, element esențial al confirmării posibilității lor utilizări în domeniul ingineriei tisulare, drept matrici suport în vindecarea rănilor.

Hidrogeluri superabsorbante pe bază de celuloză și lignină modificată

- Au fost realizate cu succes șapte hidrogeluri superabsorbante din celuloză și lignină epoxidată, prin varierea raportului gravimetric dintre cei doi biopolimeri și s-a constatat că introducerea de lignină modificată chimic îmbunătățește hidrofilia materialelor obținute, determinând o creștere proporțională a capacității lor de absorbție;
- Varierea raportului dintre cei doi biopolimeri permite obținerea unor modificări semnificative a organizării morfologice și implicit, a procesului de difuzie ce stă la baza mecanismului de transport al apei;
- S-au evidențiat perturbări ale organizării structurale a hidrogelurilor cu creșterea conținutului de lignină epoxidată, reflectată prin scăderea uniformității, a densității legăturilor de hidrogen intra- și/sau intermoleculare și a indicilor de cristalinitate;
- Biocompatibilitatea acestor materiale a variat în funcție de compoziția sistemelor testate, respectiv de concentrația de material testat, toate formulările dovedind o viabilitate celulară adecvată utilizării lor în domeniul biomedical.

Matrici 3D pentru eliberarea controlată a unor compuși bioactivi cu rol anti-inflamator în vindecarea rănilor

- A fost obținută o serie de șapte formulări conținând celuloză și dextran în rapoarte gravimetrice diferite și a fost subliniată contribuția majoră a celulozei în asigurarea unui randament ridicat de reticulare și a unor caracteristici mecanice optime;

- Prin metode de investigare specifice a fost evidențiat impactul pozitiv al dextranului asupra organizării morfologice a hidrogelurilor și implicit a gradului de relaxare a rețelelor, caracterului superabsorbant și a capacității de încapsulare a polifenolilor;
- S-a demonstrat că mecanismul de eliberare al polifenolilor este dependent de compoziția hidrogelurilor, iar acesta poate fi controlat relativ ușor prin schimbarea caracteristicilor materialelor, mai ales prin modificarea dimensiunii și interconectivității porilor;
- Testele *in vitro* au validat biocompatibilitatea hidrogelurilor atât în formă nativă, cât și după încorporarea de polifenoli și au dovedit că încapsularea cu succes a acestor compuși bioactivi determină o activitate antiinflamatorie adițională celei furnizate de dextran;
- S-a dovedit că aceste hidrogeluri, prin capacitatea lor de a elibera controlat și susținut compușii bioactivi, prezintă un potențial considerabil de a facilita și chiar accelera vindecarea rănilor, prin inhibarea procesului de inflamație.

Compoziție și procedeu de obținere a unor materiale superabsorbante pe bază de celuloză și pullulan

- Au fost preparate cu succes șapte hidrogeluri pe bază de celuloză și pullulan, prin varierea raportului gravimetric dintre cei doi biopolimeri, fapt ce a condus la un control ridicat al morfologiei și uniformității probelor și o expandare a arhitecturii poroase;
- S-a evidențiat că o creștere a conținutului de pullulan îmbunătățește atât flexibilitatea, cât și hidrofilia materialelor obținute și permite obținerea unor hidrogeluri superabsorbante;
- Biocompatibilitatea formulărilor a fost validată prin teste *in vitro*, fiind demonstrată dependența acesteia de compoziția sistemelor (încorporarea de pullulan a determinat creșterea viabilității matricilor poroase tridimensionale) și de concentrația de material testat;
- S-a demonstrat că hidrogelurile superabsorbante și biocompatibile obținute pot fi utilizate cu succes ca matrici suport pentru înglobarea și eliberarea controlată a principiilor active.

Teza de doctorat intitulată “*Obținerea și caracterizarea morfologică a unor geluri polimere complexe pentru aplicații biomedicale*” are 232 pagini repartizate în nouă capitole, care includ 30 tabele, 63 figuri, 6 scheme, 10 ecuații și 479 note bibliografice.

Activitatea de cercetare desfășurată pe parcursul stagiului de doctorat a dus la obținerea unor rezultate originale care au fost diseminate sub formă de **trei articole științifice publicate**, respectiv **un articol trimis** spre publicare în reviste internaționale cotate ISI, **o cerere de brevet**, **două capitole** de carte la edituri **internaționale**, precum și o serie de participări la manifestări științifice naționale și internaționale, sub formă de **șase postere** și **cinci comunicări orale**.

Articole publicate în reviste indexate ISI

1. **D. Rusu**, D. Ciolacu, B. C. Simionescu, Cellulose-based hydrogels in tissue engineering applications, *Cellulose Chemistry and Technology*, 53(9), 907–923, **2019**. <https://doi.org/10.35812/CelluloseChemTechnol.2019.53.88> (**FI₂₀₂₂ = 1,3**).
2. D. Ciolacu, **D. Rusu**, R. N. Darie-Niță, D. Țîmpu, F. Ciolacu, Influence of gel stage from cellulose dissolution in NaOH-water system on the performances of cellulose allomorphs-based hydrogels, *Gels*, 8(7), 410, **2022**. <https://doi.org/10.3390/gels8070410> (**FI₂₀₂₂ = 4,6**).
3. R. Nicu, D. Ciolacu, A. R. Petrovici, **D. Rusu**, M. Avădanei, A. C. Mihailă, E. Butoi, F. Ciolacu, 3D matrices for enhanced encapsulation and controlled release of anti-inflammatory bioactive compounds in wound healing, *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 4213, **2023**. <https://doi.org/10.3390/ijms24044213> (**FI₂₀₂₂ = 5,6**).
4. D. Ciolacu, R. Nicu, **D. Rusu**, D. Suflet, R. N. Darie-Niță, N. Simionescu, G. Cazacu, F. Ciolacu, Promising antimicrobial cellulose - modified lignin hydrogels as matrices for wound care management, trimis spre publicare în *Pharmaceutics* **2023** (**FI₂₀₂₂ = 5,4**).

Capitole în cărți publicate în străinătate

1. **D. Rusu**, D. Ciolacu, Cellulose-based hydrogels: design, structure-related properties, and medical applications, în: *Pulp Production and Processing: High-Tech Applications*, V.I. Popa Ed., De Gruyter, Berlin, Germania, 10, 287–315, **2020**. <https://doi.org/10.1515/9783110658842-010>
2. **D. Rusu**, D. Ciolacu, R. Vlase, Morphological aspects of sustainable hydrogels, în: *Sustainability of biomass through bio-based chemistry*, V.I. Popa Ed., CRC Press, Boca Raton, SUA, 201–228, **2021**. <https://doi.org/10.1201/9780429347993-8>

Cerere de brevet

1. D. Ciolacu, **D. Rusu**, Compoziție și procedeu de obținere a unor materiale superabsorbante pe bază de pullulan; *OSIM A 00160/ 12.03.2019*

Lucrări publicate în extenso în volume ale unor manifestări științifice

1. D. Ciolacu, **D. Rusu**, F. I. J. Pastor, Cellulose hydrogels for tissue engineering, *The 23th International Conference of Inventics INVENTICA 2019*, 26–28 iunie 2019, Iași, 46–51, **2019**.
2. **D. Rusu**, D. Ciolacu, Hydrogel matrices based on polysaccharides: design-morphology relationship, *The 23th International Conference of Inventics INVENTICA 2019*, 26–28 iunie 2019, Iași, 59–67, **2019**.

Comunicări prezentate la manifestări științifice

1. D. Ciolacu, **D. Rusu**, T. Budtova, The influence of drying method on cellulose-based porous materials, *The XXIInd International Scientific Conference INVENTICA 2018*, Iași, 28–29 iunie **2018**.
2. **D. Rusu**, D. Ciolacu, New porous materials from natural polymers, *The XXIInd International Scientific Conference INVENTICA 2018*, Iași, 28–29 iunie **2018**.
3. **D. Rusu**, G. Gavril, D. Peptănariu, T. Budtova, D. Ciolacu, Structural and morphological characterization of cellulose-based hydrogels, *4th International Conference on Chemical Engineering*, Iași, 31 octombrie–02 noiembrie **2018**.
4. D. Ciolacu, **D. Rusu**, F. I. J. Pastor, Cellulose hydrogels for tissue engineering, *The 23th International Conference of Inventics INVENTICA 2019*, Iași, 26–28 iunie **2019**.
5. **D. Rusu**, D. Ciolacu, Hydrogel matrices based on polysaccharides: design-morphology relationship, *The 23th International Conference of Inventics INVENTICA 2019*, Iași, 26–28 iunie **2019**.

Postere prezentate la manifestări științifice

1. **D. Rusu**, D. Ciolacu, Cellulose-based hydrogels: design, synthesis and morphological aspects, *Conferința Facultății de Chimie, IașiChem 2018*, Iași, 25–26 octombrie **2018**.
2. **D. Rusu**, D. Ciolacu, Preparation, characterization and biocompatibility evaluation of cellulose-based hydrogels, *The 13th International Symposium of Cosmetic and Aromatic Products*, Iași, 4–7 iunie **2019**.
3. D. Ciolacu, **D. Rusu**, Procedure and composition for preparation of superabsorbent materials based on pullulan, *The 23th International Exhibition of Inventics INVENTICA 2019*, Iași, 26–28 iunie **2019**.
4. **D. Rusu**, F. Ciolacu, D. Ciolacu, Hidrogeluri superabsorbante ranforsate cu nanocristale de celuloză, *Zilele Academice Ieșene, A 27-a Sesiune de Comunicări Științifice a Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași, Progrese în știința compușilor organici și macromoleculari*, Iași, 2–4 octombrie **2019**.
5. D. Ciolacu, G. Cazacu, **D. Rusu**, Procedure and composition for preparation of superabsorbent materials, *The 24th International Exhibition of Inventics INVENTICA 2020*, Iași, 29–31 iunie **2020**.
6. **D. Rusu**, R. N. Darie-Niță, D. Ciolacu, Rheological aspects on cellulose-based hydrogels, *International Conference on Rheology, Understanding the Viscoelastic Behavior of Materials – Progress and Challenges*, Iași, 26 mai **2022**.

Proiecte de cercetare cu finanțare națională

1. *Matrici hidrofili inovatoare pe bază de biopolimeri cu proprietăți proiectate pentru aplicații medicale* (MATINOV), Contract PN-II-RU-TE-2014-4-0558, durata: 2015-2017; director proiect: D. Ciolacu.

2. *Aero- și criogeluri pe bază de biopolimeri - materiale versatile pentru aplicații medicale* (BIOGELS), Contract PN-III-P3-3.1-PM-RO, durata: 2017-2018; director proiect: D. Ciolacu.

Stagii scurte de cercetare

1. Mines ParisTech, Centre de Mise en Forme des Materiaux, Sophia Antipolis, Franța, Cooperare bilaterală România-Franța, Proiect: *Aero- and cryo biogels as versatile materials for biomedical applications* (BIOGELS), Dr. T. Budtova, 24 octombrie–21 noiembrie **2017**.
2. Mines ParisTech, Centre de Mise en Forme des Materiaux, Sophia Antipolis, Franța, Cooperare bilaterală România-Franța, Proiect: *Aero- and cryo biogels as versatile materials for biomedical applications* (BIOGELS), Dr. T. Budtova, 14–20 octombrie **2018**.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Z. Bao, C. Xian, Q. Yuan, G. Liu, J. Wu, Natural polymer-based hydrogels with enhanced mechanical performances: preparation, structure, and property, *Adv. Healthc. Mater.* 8 (2019) 1900670. <https://doi.org/10.1002/adhm.201900670>
2. Y.D. Taghipour, V.R. Hokmabad, A.R. Del Bakhshayesh, N. Asadi, R. Salehi, H.T. Nasrabadi, The applications of hydrogels based on natural polymers for tissue engineering, *Curr. Med. Chem.* 27 (2020) 2658–2680. <https://doi.org/10.2174/0929867326666190711103956>
3. H. Seddiqi, E. Oliaei, H. Honarkar, J. Jin, L.C. Geonzon, R.G. Bacabac, J. Klein-Nulend, Cellulose and its derivatives: towards biomedical applications, *Cellulose.* 28 (2021) 1893–1931. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03674-w>
4. S.M.F. Kabir, P.P. Sikdar, B. Haque, M.A.R. Bhuiyan, A. Ali, M.N. Islam, Cellulose-based hydrogel materials: chemistry, properties and their prospective applications, *Prog. Biomater.* 7 (2018) 153–174. <https://doi.org/10.1007/s40204-018-0095-0>
5. S. Salave, D. Rana, A. Sharma, K. Bharathi, R. Gupta, S. Khode, D. Benival, N. Kommineni, Polysaccharide based implantable drug delivery: development strategies, regulatory requirements, and future perspectives, *Polysaccharides.* 3 (2022) 625–654. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides3030037>
6. N. Annabi, J.W. Nichol, X. Zhong, C. Ji, S. Koshy, A. Khademhosseini, F. Dehghani, Controlling the porosity and microarchitecture of hydrogels for tissue engineering, *Tissue Eng., Part B.* 16 (2010) 371–83. <https://doi.org/10.1089/ten.TEB.2009.0639>
7. J.W. Nichol, A. Khademhosseini, Modular tissue engineering: engineering biological tissues from the bottom up, *Soft Matter.* 5 (2009) 1312–1319. <https://doi.org/10.1039/b814285h>
8. IUPAC Recommendations, *Pure Appl. Chem.*, 57 (1985) 603–619. <http://dx.doi.org/10.1351/pac198557040603>

9. A. Isogai, R.H. Atalla, Dissolution of cellulose in aqueous NaOH solutions, *Cellulose*. 5 (1998) 309–319. <https://doi.org/10.1023/A:1009272632367>
10. B. Lindman, B. Medronho, L. Alves, C. Costa, H. Edlund, M. Norgren, The relevance of structural features of cellulose and its interactions to dissolution, regeneration, gelation and plasticization phenomena, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 19 (2017) 23704–23718. <https://doi.org/10.1039/C7CP02409F>
11. P.L. Ritger, N.A. Peppas, A simple equation for description of solute release. II Fickian and anomalous release from swellable devices, *J. Controlled Release*. 5 (1987) 37–42. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(87\)90035-6](https://doi.org/10.1016/0168-3659(87)90035-6)
12. I.A. Udoetok, R.M. Dimmick, L.D. Wilson, J.V. Headley, Adsorption properties of cross-linked cellulose-epichlorohydrin polymers in aqueous solution, *Carbohydr. Polym.* 136 (2016) 329–340. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.032>
13. D. Ciolacu, L. Pitol-Filho, F. Ciolacu, Studies concerning the accessibility of different allomorphic forms of cellulose, *Cellulose*. 19 (2012) 55–68. <https://doi.org/10.1007/s10570-011-9620-1>
14. M. Poletto, H.L. Ornaghi Júnior, A.J. Zattera, Native cellulose: structure, characterization and thermal properties, *Materials*. 7 (2014) 6105–6119. <https://doi.org/10.3390/ma7096105>
15. L. Mendoza, W. Batchelor, R.F. Tabor, G. Garnier, Gelation mechanism of cellulose nanofibre gels: A. colloids and interfacial perspective, *J. Colloid Interface Sci.* 509 (2018) 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2017.08.101>
16. M. Chau, K.J. De France, B. Kopera, V.R. Machado, S. Rosenfeldt, L. Reyes, K.J.W. Chan, S. Forster, E.D. Cranston, T. Hoare, E. Kumacheva, Composite hydrogels with tunable anisotropic morphologies and mechanical properties, *Chem. Mater.*, 28 (2016) 3406–3415. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b00792>
17. H. Pangli, S. Vatanpour, S. Hortamani, R. Jalili, A. Ghahary, Incorporation of Silver Nanoparticles in Hydrogel Matrices for Controlling Wound Infection, *J. Burn Care Res.* 42 (2021) 785–793. <https://doi.org/10.1093/jbcr/iraa205>
18. S. Dutta, A. Shome, T. Kar, P.K. Das, Counterion-induced modulation in the antimicrobial activity and biocompatibility of amphiphilic hydrogelators: influence of in-situ-synthesized Ag-nanoparticle on the bactericidal property, *Langmuir*. 27 (2011) 5000–5008. <https://doi.org/10.1021/la104903z>
19. Y.M. Zhou, S.Y. Fu, L.M. Zheng, H.Y. Zhan, Effect of nanocellulose isolation techniques on the formation of reinforced poly(vinyl alcohol) nanocomposite films, *eXPRESS Polym. Lett.* 6 (2012) 794–804. <http://dx.doi.org/10.3144/expresspolymlett.2012.85>
20. G. Socrates, *Infrared and Raman Characteristic Group frequencies*, J. Wiley & Sons (2004) ISBN: 978-0-470-09307-8
21. A. I. Van Den Bulcke, B. Bogdanov, N. De Rooze, E.H. Schacht, M. Cronelissen, M. Berghmans, Structural and Rheological Properties of Methacrylamide Modified Gelatin Hydrogels, *Biomacromolecules*. 1 (2000) 31–38. <https://doi.org/10.1021/bm990017d>
22. H. Bian, L. Jiao, R. Wang, X. Wang, W. Zhu, H. Dai, Lignin nanoparticles as nano-spacers

- for tuning the viscoelasticity of cellulose nanofibril reinforced PVA-borax hydrogel, *Eur. Polym. J.* 107 (2018) 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.08.028>
23. J. Ostrowska-Czubenko, M. Gierszewska, M. Pieróg, pH-responsive hydrogel membranes based on modified chitosan: Water transport and kinetics of swelling, *J. Polym. Res.* 22 (2015) 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10965-015-0786-3>
24. B. Kaczmarek, Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A mini review, *Materials.* 13 (2020) 3224–3236. <https://doi.org/10.3390/ma13143224>
25. D. Ciolacu, A.M. Oprea, N. Anghel, G. Cazacu, M. Cazacu, New cellulose–lignin hydrogels and their application in controlled release of polyphenols, *Mater. Sci. Eng. C* 32 (2012) 452–463. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2011.11.018>
26. S. Lee, A. Stubelius, Inflammation-responsive drug-conjugated dextran nanoparticles enhance anti-inflammatory drug efficacy, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 10 (2018) 40378–40387. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b08254>
27. M.R. Rekha, C.P. Sharma, Pullulan as a promising biomaterial for biomedical applications: A perspective, *Trends Biomater. Artif. Organs.* 20 (2007) 111–116