

## **PLATFORME DINAMICE PE BAZA DE OLIGO/POLIZAHARIDE RETICULATE PRIN REACTII DE TIP TIOL-ENA CU APLICATII BIOMEDICALE (THIOLENET)**

**Program:** PN-III-P4-PCE

**Cod proiect:** PN-III-P4-PCE-2021-1365

**Contract finanțare:** 115/2022

**Director proiect:** Conf. Dr. Bioing. Cătălina-Anișoara Peptu

### **RAPORT ȘTIINȚIFIC FINAL**

#### **1. Obiectivele prevăzute/realizate**

**Obiectivul principal al proiectului** a fost dezvoltarea de biomateriale inovative pe bază de chitosan și ciclodextrină, utilizând reacții covalente de adiție tiol-enă. Aceste reacții au loc între compuși care prezintă grupări tilice și compuși care au în structura lor duble legături C=C. Din cauza complexității acestui obiectiv, a fost necesară abordarea concomitentă a două direcții de cercetare experimentală, și anume: modificarea ciclodextrinei fie cu grupe tilice fie cu duble legături, și modificarea chitosanului cu grupe tiolice, respectiv cu duble legături. Moleculile de ciclodextrină modificate, fie cu duble legături, fie cu grupe tiolice, joacă un dublu rol în rețeaua polimerică finală: pe de o parte, ciclodextrina este parte componentă a rețelei tridimensionale formate, însă pe de altă parte, este și agent de reticulare mic molecular, constituind de fapt unul dintre factorii importanți de design ai noilor formulări întrucât permite reglarea cineticii de eliberare a principiului activ inclus în aceste rețele.

Proiectul și-a propus, prin urmare, dezvoltarea unor sisteme sub formă de hidrogeluri și/sau particule submicronice (micro și nano-geluri) cu potențial aplicativ în domeniul eliberării controlate de medicamente. Realizarea obiectivului principal a presupus îndeplinirea mai multor obiective specifice desfășurate pe parcursul a trei etape.

În cadrul *Etapei 1* (2022) *Sinteza și caracterizarea precursorilor reacției de cuplare de tip tiol-enă* a proiectului au fost prevăzute un număr de 4 activități de cercetare științifică. Toate activitățile au fost îndeplinite în totalitate și la timp, ceea ce a condus la îndeplinirea obiectivelor pentru prima etapă a proiectului precum și larealizarea indicatorilor de proiect. O scurtă descriere a principalelor activități desfășurate în această etapă este prezentată în cele ce urmează.

***Activitatea 1.1 realizată se referă la determinarea condițiilor optime pentru sinteza și caracterizarea chitosanului modificat cu duble legături.***

Se știe la acest moment faptul că, principala limitare a utilizării chitosanului în acest domeniu al sistemelor de eliberare controlată a medicamentelor este solubilitatea sa doar în mediu acid, dar și că această limitare poate fi depășită prin modificarea chimică a chitosanului

Astfel că, în această etapă s-au efectuat studii experimentale care au permis selecția reactivilor chimici, optimizarea procesului de sinteză cât și stabilirea parametrilor optimi

pentru obținerea unor produși polimerici cu proprietăți îmbunătățite precum solubilitate în apă, biocompatibilitate, biodegradabilitate care permit utilizarea sa în etapa următoare. În cadrul acestei activități au fost utilizate 3 metode de obținere a derivaților de chitosan având duble legături laterale (reacția cu anhidridă maleică, reacția cu anhidridă itaconică și reacția dintre derivatul chitosan grefat cu poli (etilen glicol metil eter acrilat) și anhidridă maleică), și toți produșii obținuți au fost caracterizați din punct de vedere fizico-chimic.. În plus, au fost obținute și micro/nanoparticule pe bază de chitosan modificat cu poli(etilen glicol) metil eter acrilat, prin metoda dublei reticulări în emulsie inversă. Metodele de caracterizare utilizate în vederea analizei suporturilor polimerice sintetizate, respectiv a sistemelor particulare au fost: spectroscopia în infraroșu cu transformată fourier (FT-IR), respectiv rezonanța magnetică nucleară (RMN), analiză dimensională, microscopie electronică de baleiaj (SEM), teste de hemoliză și analize de toxicitate.

În cadrul *Activității 1.2. au fost realizate experimente cu privire la sinteza și caracterizarea chitosanului modificat chimic cu grupe tiol*. În cadrul descrierii activității sunt prezentate 2 metode de obținere a chitosanului cu grupări tiol (reacția cu 2-iminotiolan și reacția cu homocisteină tiolactonă). Metodele de caracterizare utilizate au fost: spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier, respectiv rezonanța magnetică nucleară.

*Sinteza și caracterizarea  $\beta$ -ciclodextrinei ( $\beta$ -CD) modificată cu duble legături* prin intermediul anhidridei maleice și itaconice a fost realizată în cadrul *Activității 1.3.* Reacțiile  $\beta$ -CD cu anhidridele a avut loc în prezență de catalizator, în vederea obținerii unui produs final cu un grad de substituție adecvat reacțiilor de reticulare la nivelul legăturilor duble necesare obținerii compușilor prin reacții de tip tiolenă .

*Activitatea 1.4. a avut drept obiectiv obținerea și caracterizarea de derivați tiolați de  $\beta$ -ciclodextrină și a fost realizat prin intermediul reacției  $\beta$ -CD cu tiourea.* Metoda de caracterizare utilizata pentru determinarea cu înaltă acuratețe a structurii și a gradului de substituție caracteristice derivaților de  $\beta$ -ciclodextrină sintetizați în cadrul activităților 1.3. și 1.4. a fost spectrometria de masă cu ionizare de tip MALDI (MALDI MS). Analiza structurală a compușilor sintetizați a fost confirmată și prin experimente de fragmentare controlată în spectrometrul de masă (MALDI MS/MS). Cu toate că spectrometria de masă este o tehnică de înalta precizie în analiza structurală, utilizarea acesteia este mai puțin cunoscută. Modalitatea de interpretare a rezultatelor este specifică produșilor analizați iar în literatura de specialitate nu se regăsesc studii de acest fel. În consecință, analizele structurale prin tehnica MS și în special prin MS/MS au fost prezentate în mod detaliat.

În cadrul *Etapei 2 (2023) - Prepararea si caracterizarea de hidrogeluri si particule submicronice prin reacții covalente de reticulare de tip tiol-enă* a proiectului au fost prevăzute un număr de 4 activități de cercetare științifică. Toate activitățile au fost îndeplinite în totalitate și la timp, ceea ce a condus la îndeplinirea obiectivelor etapei și la realizarea indicatorilor de proiect. O scurtă descriere a principalelor activități desfășurate în această etapă este prezentată în cele ce urmează.

**Activitatea 2.1 Sinteza și caracterizarea ciclodextrinelor modificate cu grupe tiol a constat în determinarea condițiilor optime pentru sinteza și caracterizarea ciclodextrinei modificate cu grupe tiol.** În cadrul activității este descrisă sinteza și caracterizarea  $\beta$ -ciclodextrinei ( $\beta$ -CD) modificată cu grupări tiol prin intermediul reacției cu tiouree. Metoda de caracterizare utilizată pentru determinarea cu înaltă acuratețe a structurii și a gradului de substituție caracteristice derivaților de  $\beta$ -ciclodextrină sintetizați este spectrometria de masă cu ionizare de tip MALDI (MALDI MS). Această analiză complexă a presupus dezvoltarea unor metode pentru analiza compuşilor în cauză. În consecință, dezvoltarea metodei a avut loc în cadrul activității A1.4. iar analiză compuşilor obținuți și interpretarea critică a rezultatelor s-a realizat în cadrul acestei etape.

În cadrul **Activității 2.2 Dezvoltarea de metode de preparare a hidrogelurilor din precursorii selectați** au fost preparate hidrogeluri pe bază de chitosan funcționalizat cu grupe tiol și ciclodextrină modificată cu legături duble, sau doar pe bază de ciclodextrină modificată. De asemenea, în această etapă au fost determinate experimental condițiile de optim ai reacției între cei doi compuși modificați chimic în etapa anterioară. În plus este descrisă și obținerea unor noi sisteme sub formă de micro/nanofibre având la bază ciclodextrină modificată. Metodele de caracterizare utilizate au fost: spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier, respectiv rezonanța magnetică nucleară.

**Activitatea 2.3. Dezvoltarea de metode de preparare a particulelor submicronice din precursorii selectați prezintă detalii cu privire la metoda de preparare a particulelor submicronice pe bază de chitosan funcționalizat cu grupe tiol și ciclodextrină modificată cu legături duble,** include și determinarea parametrilor optimi de reacție între cei doi polimeri anterior menționați. De asemenea, sunt prezentate și detalii cu privire la prepararea de micro/nanoparticule pe bază de chitosan modificat cu poli(etilen glicol) metil eter acrilat, prin metoda dublei reticulări în emulsie apă-ulei. Metodele de caracterizare utilizate în vederea analizei suporturilor polimerice sintetizate, respectiv a sistemelor particulate au fost: spectroscopia în infraroșu cu transformată Fourier (FT-IR), respectiv rezonanța magnetică nucleară (RMN), analiză dimensională, microscopie electronică de baleiaj (SEM), teste de hemoliză și analiza de toxicitate.

**Activitatea 2.4. Studiul influenței parametrilor reacției de reticulare asupra proprietăților fizico-chimice ale hidrogelurilor/particulelor obținute** descrie în detaliu etapele parcurse în vederea stabilirii parametrilor optimi în ceea ce privește reacția de reticulare și influența parametrilor asupra proprietăților fizico-chimice ale hidrogelurilor, gelurilor, micro și nanoparticulelor, respectiv a nanofibrelor preparate.

În cadrul **Etapei 3 (2024) Demonstrarea potentialului aplicativ al noilor biomateriale obținute** a proiectului au fost prevăzute un număr de două activități de cercetare științifică. Toate activitățile au fost îndeplinite în totalitate și la timp, ceea ce a condus la îndeplinirea obiectivelor pentru anul 2024 și la realizarea tuturor indicatorilor de proiect în procent de 100%. O scurtă descriere a principalelor activități desfășurate în această etapă este prezentată în cele ce urmează.

Prima **Activitatea 3.1 Studii de toxicitate a noilor materiale obținute** realizată a constat în selectarea unor sisteme preparate cu proprietăți optime, în vederea evaluării compatibilității

acestora cu diferite tipuri de celule și a determinării posibilelor efecte adverse asupra viabilității și funcționării normale a acestora. Testele au inclus evaluarea citotoxicității pe culturi celulare, analiza integrității membranelor celulare și monitorizarea răspunsurilor inflamatorii. Aceste analize au permis o înțelegere detaliată a comportamentului toxicologic al materialelor sintetizate, stabilind siguranța acestora pentru utilizări potențiale în aplicații biomedicale.

În cadrul **Activității 3.2 Studii de includere și eliberare a medicamentelor în raport cu parametrii variabili ai reacțiilor de reticulare** sunt prezentate și descrise informații legate de studiul capacității de absorbție a lichidelor fiziologice, strâns corelată cu încărcarea cu medicament și potențialul de eliberare controlată. Analiza a fost realizată exclusiv pentru sistemele selectate cu parametri optimi. Sistemele încărcate cu principiu activ au fost studiate din punct de vedere al cineticii de eliberare *in vitro*, utilizând tehnici spectrale (UV-VIS).

*Rezultatele obținute și raportate confirmă finalizarea completă și la timp a tuturor activităților, ceea ce a condus la îndeplinirea integrală a obiectivelor proiectului și la depășirea indicatorilor stabiliți. În acest context, scopul propus a fost realizat în totalitate.*

#### **Detalii privind exploatarea și diseminarea rezultatelor la nivelul proiectului**

##### **Indicatori realizați:**

- Publicarea a 6 lucrari ISI (Q1/Q2) - Realizat 100%
- Participarea cu lucrări științifice la 12 conferințe internaționale - Realizat 100%
- 1 cerere de brevet - Realizat 100%
- Redactarea rapoartelor de cercetare anuale și a raportului final de cercetare - Realizat 100%
- pagina web a proiectului - Realizat 100%

#### **Articole ISI publicate**

1. Logigan, C.-L.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.; Peptu, C.A. Chitosan Grafted Poly (Ethylene Glycol) Methyl Ether Acrylate Particulate Hydrogels for Drug Delivery Applications. Gels 2022, 8, 494, **Factor de impact jurnal: 5,0**
2. Cristian Peptu, Diana-Andreea Blaj, Mihaela Balan-Porcarasu, Catalina A. Peptu, Valeria Harabagiu. Custom-modified oligolactide-cyclodextrin derivatives for electrospun drug formulations. European Polymer Journal, Volume 196, 2023, 112234, **Factor de impact jurnal: 3.862**
3. Diaconu A-D, Logigan C-L, Peptu CA, Ibanescu C, Harabagiu V, Peptu C. Polyurethane Degradable Hydrogels Based on Cyclodextrin-Oligocaprolactone Derivatives. Gels. 2023; 9(9):755, **Factor de impact jurnal: 4,6**
4. Corina-Lenuța Logigan, Christelle Delaite, Marcel Popa, Elena Simona Bacaita, Crina Elena Tiron, Cristian Peptu and Catalina Anișoara Peptu. Poly(ethylene glycol) methyl ether acrylate grafted chitosan based micro and nanoparticles as a drug delivery system for antibiotics. Polymers, **Factor de impact jurnal: 5,0**
5. T Bibire, R DANILA, Corina-Lenuța Logigan, Catalina Anisoara PEPTU, RS Cozma, Cristina Mihaela Ghiciuc. Chitosan-gelatin micro/nanoparticles as a controlled delivery of dexamethasone trometamol for topical applications in wound care. Med. Surg. J. –Rev.

Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iași2024, 128(2):411-421, doi: 10.22551/MSJ.2024.02.21,

**Factor de impact jurnal: 1,044**

6. Blaj DA, Peptu CA, Danu M, Harabagiu V, Peptu C, Bujor A, Ochiuz L, Tuchiluş CG. *Enrofloxacin Pharmaceutical Formulations through the Polymer-Free Electrospinning of  $\beta$ -Cyclodextrin-oligolactide Derivatives*. *Pharmaceutics*. 2024 Jul 5;16(7):903. doi: 10.3390/pharmaceutics16070903. PMID: 39065598; PMCID: PMC11279624, **Factor de impact jurnal: 5,4**

#### Articole ISI în curs de redactare

1. Corina-Lenuta Logigan, Cristian Peptu, Mihaela Balan-Porcarasu, Maricel Danu, Catalina-Anisoara Peptu. *Development of Novel Gels Based on Cyclodextrin Functionalized with Double Bonds and Thiolated Chitosan via Thiol-Ene Coupling*
2. Corina-Lenuta Logigan, Cristian Peptu, Catalina-Anisoara Peptu. *Innovative Nanoparticulate Polymer Supports via Thiol-Ene Polymer Conjugation for Enhanced Drug Delivery*

#### Capitol de carte publicat

1. Corina L. Logigan, Cristian Peptu, Catalina A. Peptu, Chapter 17 - Liposomes for delivery of substances for other (non-therapeutic) applications, Editor(s): Sophia G. Antimisiaris, *Liposomes in Drug Delivery*, Academic Press, 2024, Pages 435-460, ISBN 9780443154911, <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15491-1.00014-6>.

#### Cerere de brevet depusă la OSIM

1. Cerere de brevet nr. A00651 /30.10.2024 cu titlul „*Procedeu de preparare a micro/nanoparticulelor din derivați de ciclodextrină și chitosan prin nanoprecipitare fotoindusă*”

#### Participări la manifestări științifice

1. **NanoMedicine International Conference - NanoMed 2022**  
*Chitosan grafted poly (ethylene glycol) methyl ether acrylate based micro/nanocarriers for biomedical applications.*  
**Autori:** Peptu, C.A.; Logigan, C.-L.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.
2. **NanoMedicine International Conference - NanoMed 2022**  
*Nanoparticles based on chitosan grafted with PEG derivative as carriers for antibiotics.*  
**Autori:** Logigan, C.-L.; Peptu, C.A.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.
3. **6th International Conference on Chemical Engineering – ICCE 2022**  
*Cyto- and hemocompatible nanoparticles based chitosan grafted poly (ethylene glycol) methyl ether acrylate as a novel drug delivery system.*  
**Autori:** Logigan, C.-L.; Peptu, C.A.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.
4. **Congresul Internațional al Universității „Apollonia” din Iași, Pregătim viitorul promovând excelența, Ediția a XXXIII-a , 2 - 5 Martie, IAȘI, ROMANIA**  
*Chitosan Grafted Poly (Ethylene Glycol) Methyl Ether Acrylate Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Use as Drug Delivery System.*  
**Autori:** Peptu, C.A.; Logigan, C.-L.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.

5. **Progress in Organic and Macromolecular Compounds, 29th Edition, Iasi, Romania, October 4 – 6, 2023**  
*Design and synthesis of particles based on chitosan grafted poly(ethyleneglycol) methylether acrylate as carriers for antibiotics.*  
**Autori:** Peptu, C.A.; Logigan, C.-L.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.
6. **2nd International Conference on Advanced Nanomaterials and Nanotechnology, 20-21 November, Viena, Austria, 2023**  
*Chitosan grafted poly(ethylene glycol) methyl ether acrylate nanoparticles as drug delivery system.*  
**Autori:** Peptu, C.A.; Logigan, C.-L.; Delaite, C.; Tiron, C.-E.; Peptu, C.; Popa, M.
7. **2nd International Conference on Advanced Nanomaterials and Nanotechnology, 20-21 November, Viena, Austria, 2023**  
*Design of innovative gels based on thiolated chitosan and double bonds functionalized cyclodextrin formed via thiol-ene coupling.*  
**Autori:** Logigan, C.-L.; Peptu, C.; Peptu, C.A.
8. **Congresul Internațional al Universității „Apollonia” din Iași, Pregătim viitorul promovând excelența, Ediția a XXXIV-a, 29 februarie - 3 martie 2024, IAȘI, ROMANIA.**  
*Synthesis and Characterization of New Films Comprising Cyclodextrin Functionalized with Double Bonds and Thiolated Chitosan Through Thiol-Ene Coupling.*  
**Autori:** Logigan, C.-L.; Peptu, C.; Peptu, C.A.
9. **40th Informal Meeting on Mass Spectrometry 2024.**  
*MALDI MS quantification of transesterification reactions in the ring-opening polymerization of lactides.*  
**Autori:** Blaj D., Peptu, C.
10. **26th International Conference, 15-18 August 2024, Burgas, Bulgaria.**  
*Gels Derived from Chitosan and Cyclodextrin via Thiol-Ene Coupling.*  
**Autori:** Peptu, C.A.
11. **Nanomed International Conference and Exhibition, 23-25 October 2024 Barcelona, Spania.**  
*Innovative Nanoparticulate Polymer Supports via Thiol–Ene Polymer Conjugation for Enhanced Drug Delivery.*  
**Autori:** Logigan, C.-L.; Peptu, C.; Peptu, C.A.
12. **Nanomed International Conference and Exhibition, 23-25 October 2024 Barcelona, Spania.**  
*Advanced Gel Networks from Thiolated Chitosan and Cyclodextrin via Thiol-Ene Coupling.*  
**Autori:** Peptu, C.A.; Peptu, C.; Logigan, C.-L.

Director Proiect,  
 Conf. Dr. Bioing. Cătălina A. Peptu

