

RAPORT STIINTIFIC

privind obtinerea a doua hidrogeluri pe baza de chitosan si monoaldehide

Scurta descriere a datelor raportate

In vederea realizarii de chemosenzori de metale grele pe baza de hidrogeluri de chitosan, in aceasta etapa a proiectului ne-am propus sinteza si caracterizarea biomaterialelor ce urmeaza a fi ulterior testate ca chemosenzori. In acest sens au fost propuse doua hidrogeluri, care difera intre ele prin aldehida cu care chitosanul a fost reticulat. Ambele hidrogeluri au fost sintetizate si caracterizate, asa cum va fi descris in cele ce urmeaza.

1. Sinteza de hidrogeluri pe baza de chitosan si citral

Sinteza hidrogelurilor pe baza de chitosan si citral a fost realizata in acord cu reteta publicata de grupul nostru [1], dupa cum urmeaza.

S-a preparat o solutie de chitosan 2% (pH=6.3) prin dizolvarea a 1,2 g chitosan (5,8 mmoli de unitati structurale glucozamina) in 60 ml acid acetic 0.7 %.

Citralul s-a dizolvat in alcool etilic astfel incat sa formeze o solutie 1%. S-au folosit cantitati diferite de citral, intre 9,2 – 2,3 g, pentru a obtine hidrogeluri cu grade diferite de reticulare (Tabel 1).

Balonul cu solutia de chitosan s-a introdus intr-o baie de apa si s-a incalzit la 55 °C. Separat, solutia de citral a fost incalzita la 60 °C.

Solutia de citral calda a fost picurata lent peste solutia de chitosan, sub agitare magnetica puternica, mentinandu-se balonul cu amestecul de reactie la temperatura de 55 °C pana cand s-a observat transformarea amestecului intr-un semisolid transparent, omogen. Hidrogelul astfel obtinut s-a pastrat descoperit la temperatura camerei pana la evaporarea etanolului. In continuare, hidrogelul s-a pastrat timp de 10 zile sigilat pentru a se atinge punctul de echilibru al reactiei de iminare (verificare prin RMN). Hidrogelurile astfel obtinute au fost liofilizate pentru a se obtine xerogelurile corespunzatoare.

Tabel 1. Cantitatile de reactanti utilizate pentru obtinerea unei serii de hidrogeluri

Code	C1	C2	C3	C4	C5	C6
raport unitati glucozamina/aldehida	1/1	2/1	2,5/1	3/1	3,5/1	4/1
g citral	9,2	4,6	3,6	3,0	2,6	2,32
mmol citral	5,8	2,9	2,32	1,9	1,6	1,4
timp de gelifiere	3 minute	3 ore	24 ore	24 ore	24 ore	24 ore

Pentru **confirmarea structurii** hidrogelurilor au fost inregistrate spectrele RMN si FTIR. Spectrul RMN a evidentiat aparitia benzii de vibratie a legaturii imina la aprox. 8,4 ppm, confirmand formarea ei, in echilibru cu aldehida reticulanta (9,8 ppm) (Figura 1a). Spectrele FTIR inregistrate pe xerogeluri au confirmat conversia totala in timpul liofilizarii, a aldehidei in legaturi imina prin aparitia benzii de vibratie a acesteia la 1645 cm^{-1} si disparitia totala a benzii de vibratie a gruparii aldehida din citral de la 1675 cm^{-1} (Figura 1b).

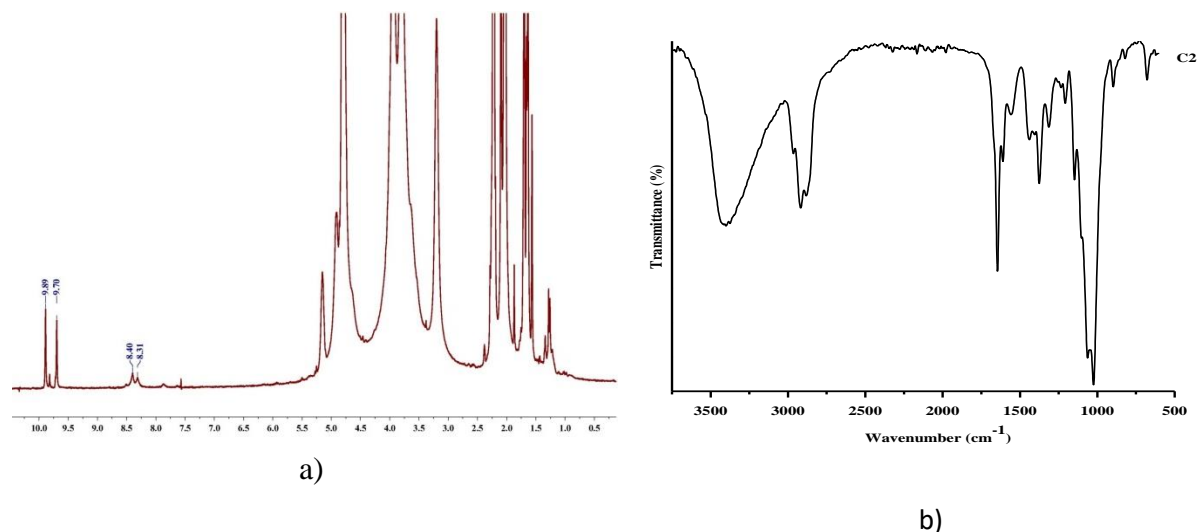


Figura 1. Spectrul a) ^1H -RMN si b) FTIR al xerogelului C2

Difractogramele de raze X ale xerogelurilor au confirmat **arhitecturarea supramoleculara** a hidrogelurilor prin aparitia reflectiei specifice distantei inter-strat la unghiul $4,7^\circ$ (Figura 2).

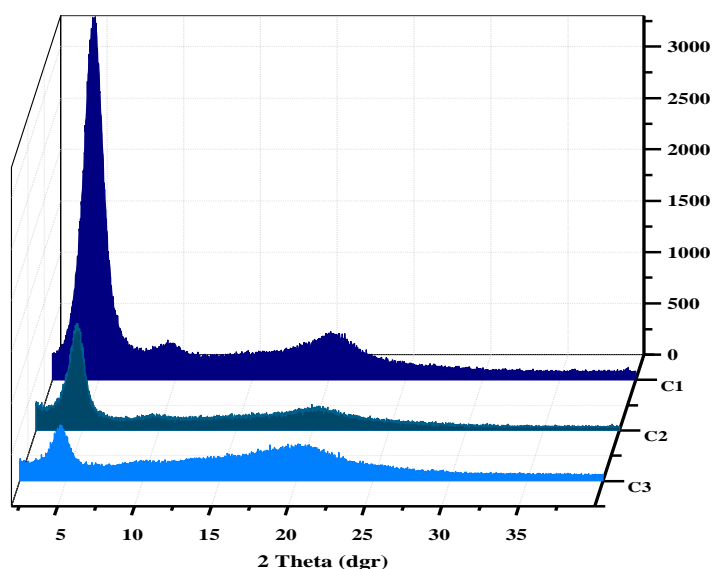


Figura 2. Difractograme de raze X ale hidrogelurilor C1–C3 inregistrate pe probe de xerogel

Inregistrarea de imagini SEM pe xerogeluri a confirmat **structura poroasa** a acestora, cu pori de dimensiune variabila, in functie de gradul de reticulare (Figura 3). Dimenisunea porilor a variat in intervalul $40 - 20\ \mu\text{m}$, in functie de gradul de reticulare.

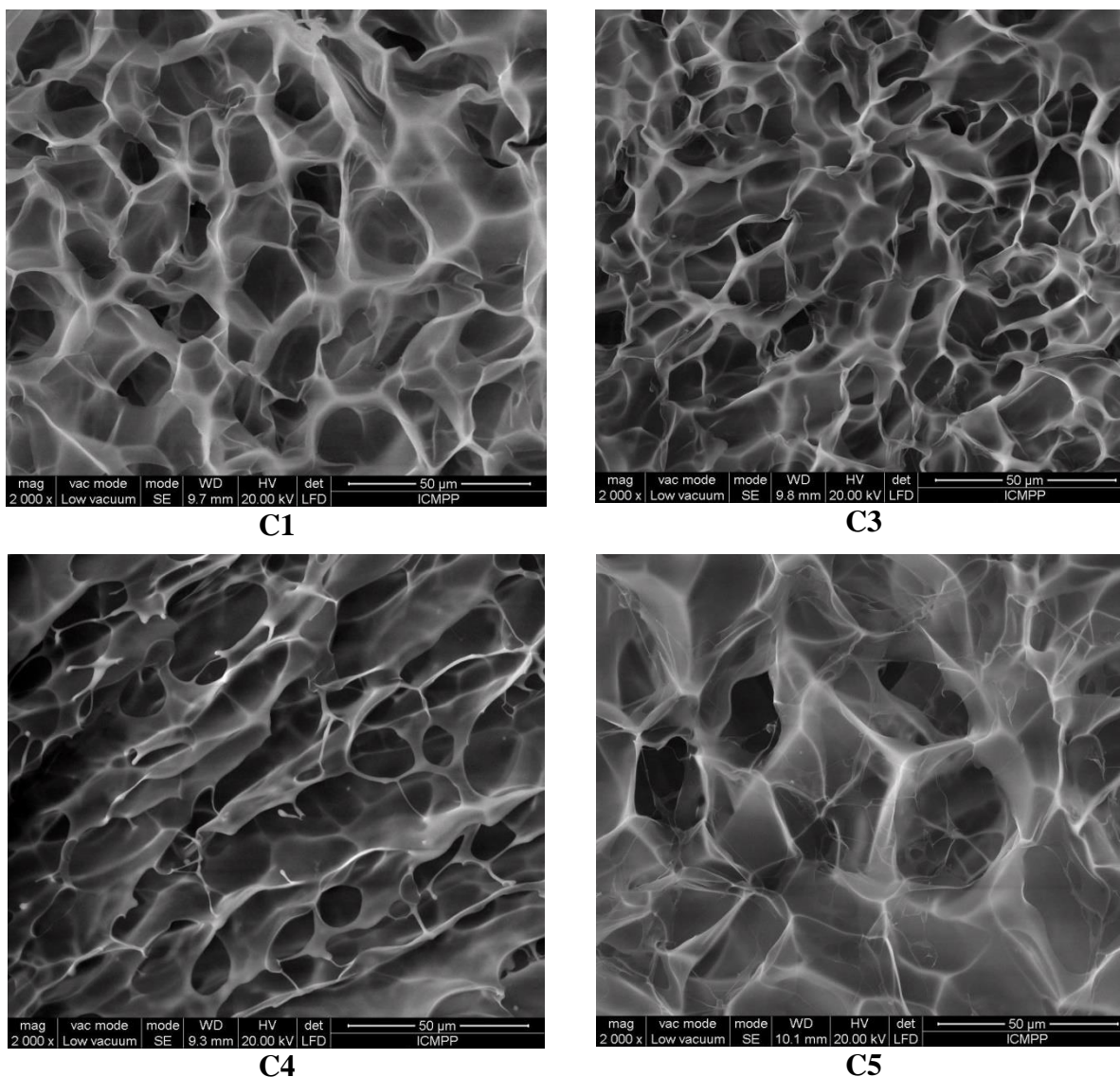


Figura 3. Imagini reprezentative SEM ale hidrogelurilor sintetizate

Comportamentul fotofizic al hidrogelurilor a fost determinat prin înregistrarea spectrului de absorbție și emisie. Așa cum se poate vedea în figura 4a, hidrogelurile prezintă o bandă de absorbție bine definită la 245 nm, și două benzi suprapuse de intensitate mică, sub formă de umăr la 297 și 342 nm. Banda de la 342 nm a fost atribuită cromoforului azometina. La excitație cu lumina corespunzătoare acestui maxim de absorbție, hidrogelurile emit lumina albastră cu un maxim de emisie la 497 nm (Figura 3b). Eficiența emisie a fost determinată prin măsurători ale randamentului cuantic cu o sferă integratoare, când au fost înregistrate valori de aprox. 3 %. Culoarea albastră a luminii emise a fost vizualizată prin iluminare cu o lampă UV (Figura 3c), și confirmată de diagrama de cromaticitate (Figura 3d).

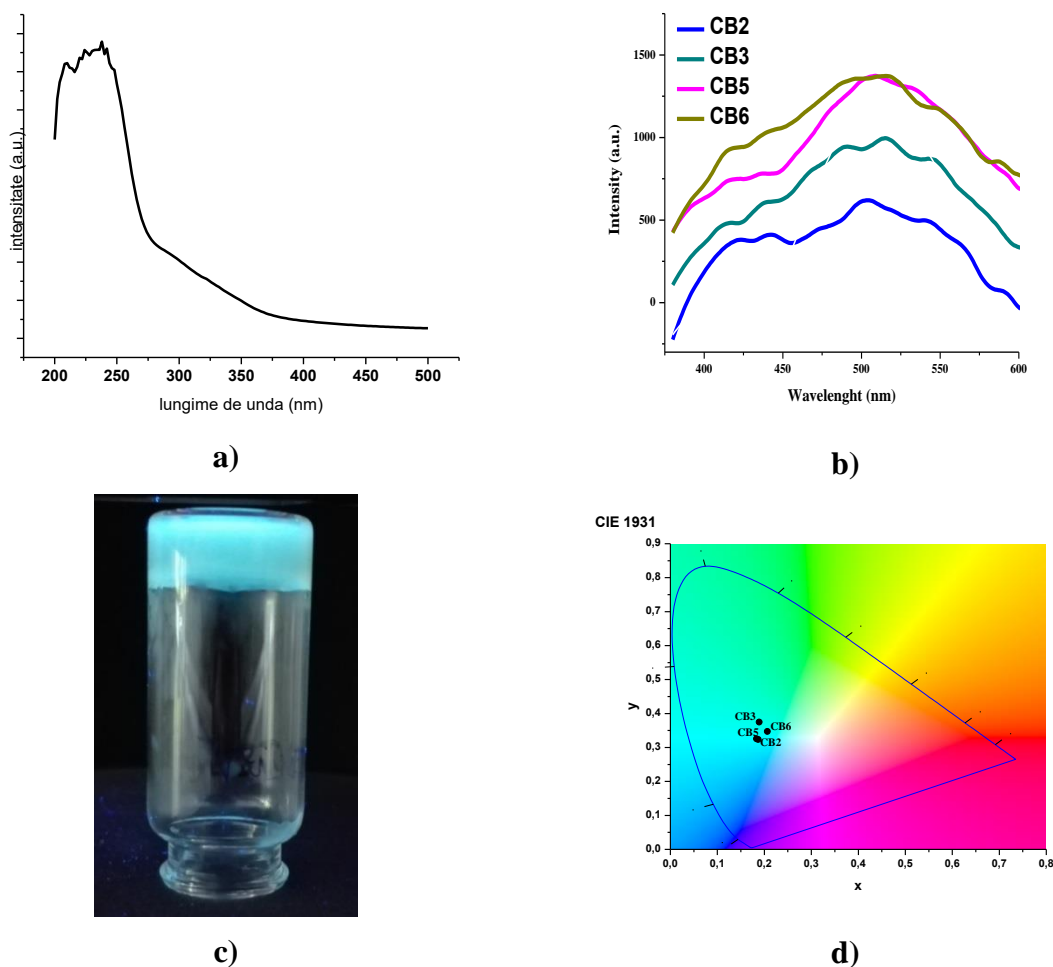


Figura 4. Spectrul a) UV-vis; b) de fotoluminescenta; c) hidrogel iluminat cu o lampa UV; d) diagrama de cromaticitate a hidrogelului reprezentativ C2

2. Sinteza de hidrogeluri pe baza de chitosan si fenotiazina

Hidrogelurile pe baza de chitosan si fenotiazina *au fost sintetizate* respectand reteta anterior publicata [2], dupa cum urmeaza.

O solutie de chitosan a fost pregatita intr-un flacon de 200 ml prin dizolvarea a 600 mg chitosan (294,6 mmoli glucozamina) in 30 ml solutie de acid acetic 0.7 % (210 μ l acid acetic glacial in 29,79 ml apa bidistilata), la temperatura camerei.

Pentru a obtine o serie de hidrogeluri cu grad de reticulare diferit, o solutie de aldehida fenotiazinica a fost preparata prin dizolvarea a diferite cantitati in 6,80 ml DMSO (**Tabel 2**).

Ambele solutii au fost incalzite la temperatura de 65 °C, dupa care solutia de aldehida a fost adaugata peste cea de chitosan prin picurare, sub agitare magnetica continua, pana la aparitia unei solutii vascoase opace de culoare galbena. In continuare, in mediul de reactie a fost adaugat un volum de 20 ml de acetona ultrapura, cand lichidul opac vascos s-a transformat intr-un semisolid transparent. Hidrogelurile astfel obtinute au fost pastrate neacoperite timp de trei zile la temperatura camerei. In vederea indepartarii DMSO-ului si a

urmelor de aldehida nereactionata din sistem, hidrogelurile au fost spalate prin imersarea repetata in volume a cate 100 ml etanol uscat timp de 30 minute fiecare, procesul fiind repetat pana in momentul in care alcoolul utilizat a ramas incolor iar hidrogelurile au devenit omogene. Pentru a rehidrata hidrogelurile, acestea au fost imersate de cinci ori in cate 100 mL apa bidistilata. Xerogelurile corespunzatoare au fost obtinute prin tehnica liofilizarii.

Tabel 2. Cantitatile de reactanti utilizati in obtinerea hidrogelurilor

Cod	CPA1	CPA2	CPA3	CPA4	CPA5
Raport molar NH ₂ /CHO	1:0.05	1:0.1	1:0.2	1:0.3	1:0.4
Chitosan (g)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Aldehida (g)	0,059	0,118	0,236	0,356	0,475

Spectrele ¹H-RMN au *confirmat formarea legaturii imina* prin prezenta deplasarii chimice specifice la 8,55 ppm, in echilibru cu aldehida precursora (Figura 5a). Spectrul FTIR a aratat consumarea totala a aldehidei reticulante in timpul liofilizarii, prin disparitia totala a benzii de vibratie caracteristice de la 1675 cm⁻¹, si prezenta vibratiei legaturii imina la 1649 cm⁻¹ (Figura 5b).

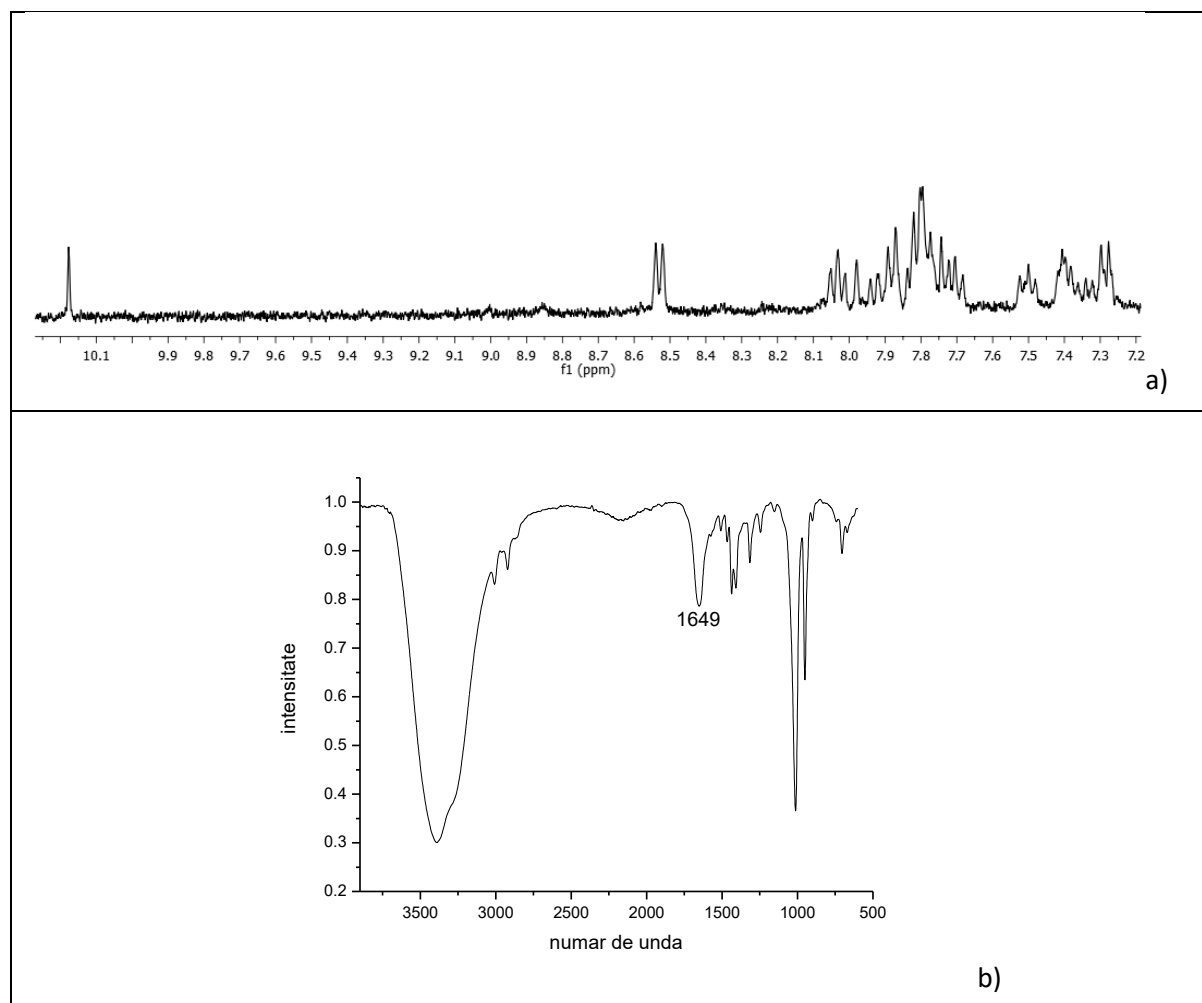


Figura 5. Spectru a) ¹H-RMN si b) FTIR al hidrogelului CPA5

Difractia de raze pe probele de xerogel a confirmat formarea de clusteri ordonati de unitati iminca, cu rol de reticulat, prin prezenta reflectiei de la $6,3^\circ$ (Figura 6).

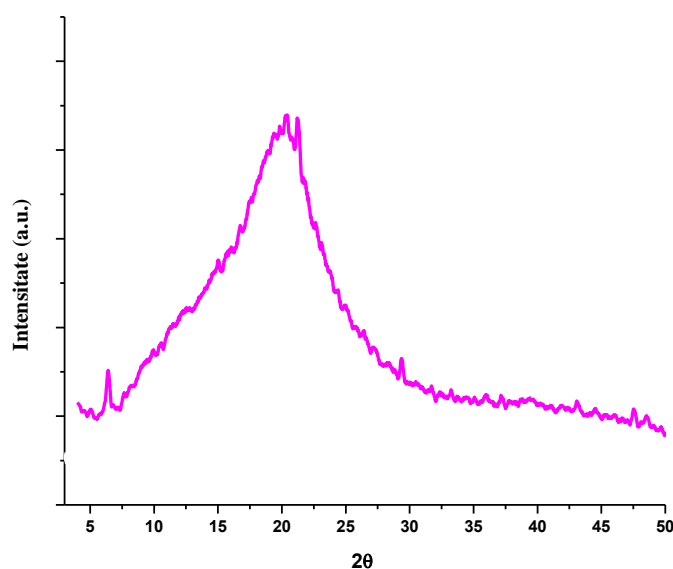


Figura 6. Difractograma de raze X a xerogelului CPA4

Hidrogelurile au aratat o morfologie poroasa, cu pori intercomunicanti de aprox. 50 μm . Peretii porilor sunt foarte subtiri, transparenti (Figura 7).

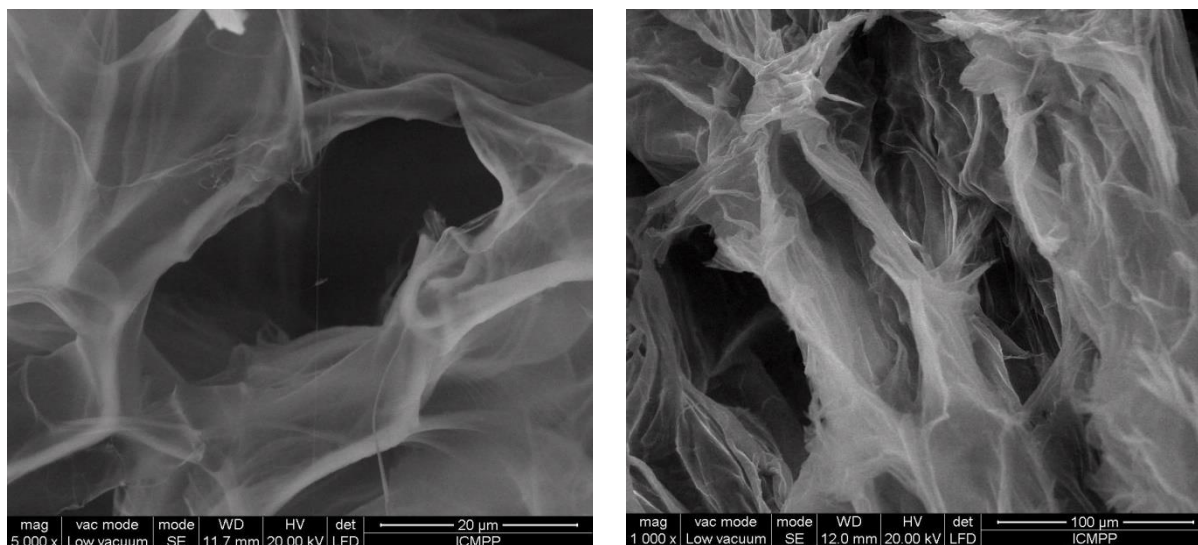


Figura 7. Imagini SEM reprezentative

1. L. Marin, D. Ailincăi, S. Morariu, L. Tartau-Mititelu, Development of biocompatible glycodynamic hydrogels joining two natural motifs by dynamic constitutional chemistry, *Carbohydr. Polym.* 170 (2017) 60-71
2. A. Bejan, D. Ailincăi, B.C. Simionescu, L. Marin, Chitosan hydrogelation with a phenothiazine based aldehyde – toward highly luminescent biomaterials, *Polym. Chem.* 9 (2018) 2359-2369.

Concluzii

Toate activitatile propuse in aceasta etapa au fost indeplinite. Practic au fost sintetizate hidrogelurile ce urmeaza sa fie folosite in etapa urmatoare pentru testarea capacitatii de chemosenzori de metale grele. In decursul acestei etape, a fost efectuata o deplasare la Institutul Tehnologic Wuhan unde impreuna cu echipa Profesorului Cheng am proiectat noi structuri cromofore care urmeaza sa fie legate pe lanturile de chitosan pentru a obtine eco-materiale luminescente ca straturi active pentru senzori de metale grele. In timpul deplasarii am sustinut o conferinta pe tema obtinerii de hidrogeluri pe baza de chitosan si monoaldehide, cu scopul de promovare a noului concept de hidrogelare introdus de grupul nostru. Deasemeni am avut discutii cu studentii profesorului Cheng pe tema sintezei si purificarii de noi cromofori, si a conditiilor de reactie a chitosanului cu cromofori in vederea obtinerii de hidrogeluri.

Rezultatele obtinute au fost prezentate sub forma a doua prezentari orale in meeting-uri internationale si sub forma a doua lucrari stiintifice.

Lucrari

1. Wei Sun, Rong Chen, Xinjian Cheng, Luminita Marin, Bodipy-based chemosensors for highly sensitive and selective detection of Hg²⁺ ions, *New Journal of Chemistry*, 2018,42, 19224-19231
2. Daniela Ailincăi, Daniela Pamfil, Luminita Marin, Multiple bio-responsive polymer dispersed liquid crystal composites for sensing applications, *Journal of Molecular Liquids* 272 (2018) 572–582

Prezentari

1. Luminita Marin, Chitosan Hydrogelation with Monoaldehydes – A Synthetic Approach Towards Multifunctional Biomaterials, 14th IUPAC International Conference on Novel Materials and their Synthesis (NMS-XIV), Guangzhou, China, 2018
2. Daniela Ailincăi, Andrei Bejan, Luminita Marin, Chitosan Imination Towards Highly Luminescent Materials, 14th IUPAC International Conference on Novel Materials and their Synthesis (NMS-XIV), Guangzhou, China, 2018