



Școala de Studii Avansate a Academiei Române – SCOSAAR
ȘCOALA DOCTORALĂ DE ȘTIINȚE CHIMICE –SDSC
Aleea Grigore Ghica Vodă 41A, 700487 Iași, România
Telefon: +4 0332 880 220
E-mail: secretariatsdsc@icmpp.ro



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

ELABORAREA ȘI CARACTERIZAREA UNOR MATERIALE
POLIMERE CU APLICAȚII BIOMEDICALE
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător de doctorat:
Dr. Maria BERCEA

Student-doctorand:
Ioana Alexandra MUNTENAȘU
(Căsătorită PLUGARIU)

2024

Mulțumiri

Teza de doctorat marchează o etapă importantă din devenirea mea profesională, iar pentru aceasta aș dori să îmi exprim aprecierea față de cei care au inspirat și îndrumat prezenta lucrare.

Cu deosebită recunoștință, aduc mulțumiri **Doamnei Dr. Maria Bercea**, îndrumătorul tezei de doctorat, pentru întregul suport oferit, dăruirea și profesionalismul cu care a condus, inspirat și vegheat tot procesul conceperii lucrării doctorale. În plus, exprim alese mulțumiri pentru încurajări și susținere, prin latura profund umană a doamnei și prin noblețea preocupării pentru perfecționarea pregătirii mele.

Recunoștință aduc **Doamnei Dr. Luiza Grădinaru** pentru contribuția în realizarea studiilor, sinteza probelor de poliuretan, sprijin permanent și sugestii pentru îmbunătățirea tezei. De asemenea, îmi exprim aprecierea pentru ajutorul oferit de **Doamna Dr. Mihaela Avadanei**, precum și față de **Doamna Dr. Florica Doroftei și Doamna Dr. Daniela Rusu** în realizarea studiilor FTIR și SEM.

Întreaga apreciere și mulțumire pentru membrii comisiei de îndrumare, **Doamna Dr. Loredana Niță, Doamna Dr. Simona Morariu și Doamna Dr. Valentina Dinu**, pentru sugestiile și sfaturile oferite și pentru ajutorul acordat în realizarea unor studii de cercetare.

Adresez distinse mulțumiri și deosebită considerație referenților, **Doamna Dr. Mariana Pinteală, Doamna Prof. Dr. Ana Clara Aprotosoae și Domnul Prof. Dr. Robert Grădinaru**, pentru disponibilitatea de a face parte din comisia de evaluare a tezei de doctorat, amabilitatea de a evalua conținutul tezei, precum și sprijin în realizarea unor studii de cercetare.

Distinse mulțumiri se îndreaptă către **Doamna Dr. Irina Roșca și Domnișoara Dr. Irina Pelin**, pentru realizarea studiilor antimicrobiene și de bioadezivitate, precum și către **Doamna Dr. Marieta Constantin și Doamna Dr. Irina Popescu** pentru discuții și ajutorul acordat.

Sincere mulțumiri **Domnișoarei Drd. Alexandra Lupu** pentru sugestii, sprijin și ajutor colegial, precum și **Doamnei Dr. Mirela Honciuc și Doamnei Dr. Cristina Brunchi** din cadrul **Laboratorului Polimeri Naturali, Materiale Bioactive și Biocompatibile**.

De asemenea, adresez mulțumiri **Doamnei Sînziana Vlad și Doamnei Dr. Ana Maria Solonaru** pentru încurajări și sprijinul acordat.

Mulțumesc **Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” și Academiei Române** pentru cadrul propice oferit formării mele și realizării cercetărilor în domeniul biomaterialelor pe întregul parcurs al stagiului de doctorat.

Nu în ultimul rând, doresc să îi mulțumesc **soțului meu**, pentru suportul și implicarea oferite, precum și **familiei** pentru susținerea pe care mi-au acordat-o în perioada realizării tezei de doctorat.

Cu recunoștință,

Ioana-Alexandra Muntenașu (căs.Plugariu)

CUPRINS

CAPITOLUL 1. INTRODUCERE	1
---------------------------------------	---

PARTEA I. STUDIU DE LITERATURĂ

CAPITOLUL 2. STADIUL ACTUAL AL CERCETĂRILOR ÎN DOMENIUL BIOMATERIALELOR POLIMERE

2.1. Introducere în domeniul biomaterialelor	5
2.2. Interacțiuni ale proteinelor cu diferite substanțe active sau polizaharide	16
2.3. Materiale hibride polimer-proteină	17
2.4. Biomateriale utilizate în eliberarea controlată de principii active	20
2.5. Aspecte generale privind obținerea și proprietățile hidrogelurilor	21
2.6. Hidrogeluri injectabile sensibile la temperatură	26
2.7. Hidrogeluri poroase pe bază de polimeri naturali și sintetici	28
2.8. Conceptul de hidrogel ca pansament pentru răni	31

PARTEA II. REZULTATE ORIGINALE PRIVIND MATERIALELE POLIMERE CU APLICAȚII BIOMEDICALE

CAPITOLUL 3. MATERIALE ȘI METODE

3.1. Materiale utilizate pentru realizarea studiilor experimentale	38
3.2. Metode de studiu	50

CAPITOLUL 4. STUDII PRIVIND COMPORTAREA ÎN SOLUȚIE A POLIMERILOR, PROTEINELOR ȘI PEPTIDELOR

4.1. Aspecte experimentale specifice studiului	58
4.2. Efectul unui cosolvent macromolecular „inert” asupra viscozității proteinelor globulare	59
4.2.1. Viscositatea soluțiilor diluate de BSA în prezență de PVA	59
4.2.2. Studii privind miscibilitatea amestecurilor de PVA/BSA în soluții apoase de NaCl	63
4.2.3. Discutarea parametrilor viscozimetrici pentru amestecurile PVA/BSA în soluții apoase saline utilizând modelul Wolf	66
4.2.4. Comportarea în condiții de curgere a amestecurilor de PVA/BSA în soluție	68

4.3. Interacțiuni asociative între pullulan și albumina serică bovină	71
4.3.1. Viscositatea amestecurilor de pullulan și BSA	71
4.3.2. Evaluarea interacțiunilor dintre PULL și BSA în soluție	73
4.3.3. Determinarea interacțiunilor dintre macromolecule și solvent prin osmometrie	76
4.4. „Aglomerarea” macromoleculară a proteinelor în prezența polimerilor neutri	80
4.5. Aspecte privind interacțiunile dintre proteine și peptide în soluție	82
4.6. Particularități privind comportarea la curgere a soluțiilor de BSA	85
4.7. Concluzii	87

CAPITOLUL 5. HIDROGELURI COMPOZITE PE BAZĂ DE POLI(ALCOOL VINILIC) ȘI BIO(MACRO)MOLECULE

5.1 Hidrogeluri compozite pe bază de poli(alcool vinilic) și pullulan ca potențiale suporturi pentru aplicații de tip pansament	90
5.1.1. Prepararea hidrogelurilor compozite	91
5.1.2. Analiza morfologică a hidrogelurilor pe bază de PVA și PULL	92
5.1.3. Comportarea viscoelastică a hidrogelurilor pe bază de PVA și PULL	94
5.1.4. Comportarea la umflare a hidrogelurilor compozite pe bază de PVA și PULL	96
5.1.5. Studii privind cinetica eliberării substanțelor active din hidrogelurile de PVA/PULL în prezență și în absență de argilă	98
5.2. Hidrogeluri hibride pentru eliberarea de substanțe active: efecte sinergetice ale polimerilor naturali/sintetici și proteine	101
5.2.1. Prepararea hidrogelurilor	101
5.2.2. Morfologia hidrogelurilor hibride	102
5.2.3. Studii de spectroscopie în infraroșu pentru hidrogelurile hibride	104
5.2.3.1. Interacțiuni în matricea polimeră în absența/prezența proteinelor	104
5.2.3.2. Modificări conformaționale ale BSA în prezența amestecurilor de PULL/PVA	107
5.2.4. Comportarea reologică a hidrogelurilor hibride	109
5.2.5. Comportarea la umflare a hidrogelurilor hibride	111
5.2.6. Studii de eliberare a neomicinei din hidrogelurile hibride	112
5.3. Hidrogeluri poroase pe bază de PVA, HPC și BSA pentru aplicații de tip pansament	116

5.3.1. Prepararea și optimizarea proprietăților hidrogelurilor pe bază de PVA, HPC, BSA	116
5.3.2. Morfologia hidrogelurilor hibride PVA/HPC/BSA	118
5.3.3. Analiza structurală a hidrogelurilor PVA/HPC/BSA prin spectroscopie ATR-FTIR	120
5.3.4. Influența conținutului de BSA asupra comportării reologice a hidrogelurilor PVA/HPC/BSA	122
5.3.5. Comportarea la umflare a hidrogelurilor compozite PVA/HPC/BSA	124
5.3.6. Mecanismul și cinetica de eliberare in vitro a substanțelor active	125
5.4. Hidrogeluri hibride polimer/proteină cu proprietăți mecanice reglabile	129
5.4.1. Prepararea hidrogelurilor	129
5.4.2. Proprietăți mecanice ale hidrogelurilor hibride PVA/BSA	131
5.4.3. Cinetica umflării hidrogelurilor	133
5.4.4. Evaluarea bioadezivității hidrogelurilor	134
5.5. Concluzii	134

CAPITOLUL 6. GELURI TERMOSENSIBILE CA POTENȚIALE BIOMATERIALE INJECTABILE SAU SISTEME PENTRU ELIBERARE DE SUBSTANȚE ACTIVE

6.1. Hidrogeluri compozite pe bază de Poloxamer 407 și pullulan ca potențiale biomateriale injectabile	137
6.1.1. Diagrama de fază pentru amestecurile pullulan și Poloxamer P407 în soluție	138
6.1.2. Caracterizarea reologică a probelor care conțin PULL și P407	140
6.1.2.1. Investigarea fenomenului de gelifiere indusă de temperatură	140
6.1.2.2. Comportarea la curgere a gelurilor	142
6.1.2.3. Comportarea tixotropă	144
6.1.2.4. Comportarea viscoelastică în testele de fluaj și de recuperare elastică	144
6.1.3. Proprietăți biologice	145
6.2. Asocierea macromoleculară indusă de curgere	148
6.2.1. Fenomene asociative în soluții apoase ce conțin amestecuri de PVA și poliuretan ...	148
6.2.2. Evoluția dimensiunii particulelor în funcție de temperatură și istoricul forfecării	150
6.2.3. Energia de activare a curgerii	152
6.3. Gelifierea indusă de temperatură în sisteme pe bază de PVA și PU	154
6.4. Hidrogeluri pe bază de poliuretan și poli(alcool vinilic)	158

6.4.1. Influența temperaturii asupra comportării viscoelastice a amestecurilor pe bază de poliuretan și poli(alcool vinilic) în soluție concentrată și în stare de gel	158
6.4.2. Comportarea la curgere la temperatura de 20°C	159
6.4.3. Comportarea la curgere la temperatura de 37°C	161
6.4.4. Aspecte structurale ale hidrogelurilor în stare de repaus și sub acțiunea forțelor externe	163
6.4.5. Răspunsul viscoelastic al hidrogelurilor la 37°C	164
6.5. Hidrogeluri termosensibile pe bază de poliuretan ca potențiale vehicule pentru eliberarea meloxicamului	168
6.5.1. Aspecte privind structura chimică și solubilitatea meloxicamului	168
6.5.2. Prepararea sistemelor pe bază de poliuretan și meloxicam	171
6.5.3. Utilizarea promotorilor de absorbție a MX	173
6.5.4. Activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor de poliuretan în prezența uleiului esențial de oregano	175
6.5.6. Investigații reologice	179
6.5.6.1. Evidențierea procesului de gelifiere indusă de temperatură	179
6.5.6.2. Delimitarea domeniilor de viscoelasticitate liniară și neliniară	181
6.5.6.3. Refacerea structurii hidrogelului după aplicarea unor deformații foarte mari	182
6.5.6.4. Comportarea la curgere în stare de gel (la temperatura de 37°C)	183
6.5.6.5. Comportarea la fluaj și recuperare elastică	184
6.5.7. Influența adăugării uleiurilor esențiale asupra comportării viscoelastice a hidrogelurilor de poliuretan încărcate cu meloxicam	185
6.5.8. Potențialul zeta și dimensiunile micelilor de poliuretan	187
6.5.9. Eliberarea meloxicamului din hidrogeluri pe bază de poliuretan	188
6.6. Concluzii	192
CAPITOLUL 7. CONCLUZII GENERALE	193

BIBLIOGRAFIE

ANEXA 1 Lista publicațiilor rezultate în urma cercetării științifice din programul de studii doctorale

ANEXA 2 Copii ale articolelor științifice publicate

INTRODUCERE

Pe parcursul ultimelor decenii s-au raportat numeroase studii privind obținerea, caracterizarea și testarea rețelelor polimere, pentru un domeniu larg de aplicații biomedicale, de la ingineria tisulară, la dispozitive medicale sau sisteme de eliberare controlată de substanțe active. Hidrogelurile pot imita dinamica și funcțiile matricei extracelulare naturale și pot îndeplini o serie de caracteristici chimice și biofizice cheie ale țesuturilor vii: elasticitatea, capacitatea de a reține o cantitate mare de apă sau fluide biologice, abilitatea de a încorpora o varietate de compuși bioactivi (factori de creștere, agenți antimicrobieni și farmaceutici etc.). Conform studiilor publicate recent în literatură, se pot proiecta hidrogeluri multicomponente cu diverse microstructuri și rețele de pori interconectați. Mai mult, prin tehnica de imprimare 3D se pot crea hidrogeluri personalizate, care permit controlul spațial și temporal al eliberării compușilor bioactivi și vindecarea rapidă a rănilor. Structuri tridimensionale versatile pot fi obținute plecând de la polimeri naturali și/sau sintetici, proteine și peptide, într-o varietate structurală și compozițională, cu diferite grade de flexibilitate/elasticitate, capabile să răspundă la stimuli externi, să încorporeze și să elibereze controlat principiile active. Pentru proiectarea eficientă și caracterizarea complexă a unor noi biomateriale, este necesară o bună cunoaștere a proprietăților materialelor de plecare, precum și a interacțiunilor specifice care se manifestă în condiții bine stabilite.

Pe baza acestor considerente, **obiectivul general** al tezei de doctorat, intitulată „*Elaborarea și caracterizarea unor materiale polimere cu aplicații biomedicale*” a constat în proiectarea unor noi materiale polimere, pe bază de macromolecule naturale și/sau sintetice, cu structuri și proprietăți fizico-chimice adecvate utilizării acestora în diverse aplicații, cum ar fi: pansamente pentru vindecarea rănilor sau sisteme de eliberare controlată de substanțe active. **Motivația** studiului o reprezintă o mai bună înțelegere a modului de formare și a funcționalității structurilor tridimensionale, pe baza proprietăților intrinseci ale polimerilor solubili în apă și a fenomenelor de autoasamblare, care au loc în soluție. De asemenea, un alt aspect de interes al studiului a constat în optimizarea caracteristicilor unor hidrogeluri în vederea utilizării lor ca vehicule adecvate pentru unele substanțe active greu solubile în solvenți uzuali, dar benefice din punct de vedere terapeutic. Studiile au vizat și formularea unor hidrogeluri care să elibereze principiul activ într-un mod controlat, condiție necesară în diferite patologii.

Lucrarea este structurată în două părți distincte și cuprinde în total șapte capitole și anexe.

Partea I-a tezei de doctorat, cuprinde un capitol introductiv (**Capitolul 1**) și un capitol dedicat studiului de literatură privind o serie de polimeri și proteine de interes pentru obținerea biomaterialelor (**Capitolul 2**). Din această analiză, s-a remarcat un câmp de lucru foarte larg, deschis pentru noi abordări în domeniul hidrogelurilor. S-a făcut referire în principal la hidrogeluri injectabile și poroase, precum și la cerințele pe care materialul trebuie să le îndeplinească pentru a fi utilizat drept pansament pentru răni.

Partea a II-a a tezei de doctorat este structurată în cinci capitole și prezintă contribuțiile originale privind obținerea, optimizarea, caracterizarea fizico-chimică și testarea capacității de eliberare a substanțelor active pentru materialele obținute.

Capitolul 3 descrie materialele și echipamentele utilizate în studiile experimentale pe parcursul elaborării lucrării. Pentru investigațiile experimentale s-au utilizat atât probe comerciale de polimeri, proteine și alți compuși, precum și probe de polimeri sintetizate în cadrul Institutului de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”. Sunt prezentate succint principalele caracteristici ale acestor compuși de plecare, care au fost ulterior folosiți pentru prepararea unor noi materiale. Au fost prezentate succint metodele de investigare utilizate pe parcursul elaborării tezei de doctorat.

Capitolul 4 conține studii termodinamice și reologice privind comportarea în soluție a polimerilor, proteinelor și peptidelor, care au fost utilizate la prepararea hidrogelurilor. Se prezintă studii de viscozimetrie și osmometrie care au permis atât evaluarea unor parametri termodinamici, viscozitatea intrinsecă și coeficienții viriali (A_2 și A_3), cât și discutarea miscibilității dintre polimeri și proteine și a interacțiunilor care apar în sisteme binare și multicomponente. Au fost identificate o serie de particularități de comportare și anume interacțiuni asociative între pullulan și albumina serică bovină, în condiții fiziologice sau comportarea de cosolut „inert” a poli(alcoolului vinilic) în prezență de proteine globulare. De asemenea, au fost discutate fenomenele de aglomerare macromoleculară a proteinelor în prezența polimerilor neutri și s-au investigat modalitățile de evidențiere experimentală a acestor comportări.

Capitolul 5 este dedicat hidrogelurilor multicomponente pe bază de polimeri naturali (pullulan, hidroxipropil celuloză) și polimeri sintetici (în principal poli(alcoolului vinilic)) sau hidrogeluri hibride pe bază de polimeri, proteine (albumina serică bovină, liozima) și o tripeptidă (glutacionul redus). S-a vizat proiectarea unor hidrogeluri pentru aplicații de tip pansament sau materiale cu proprietăți mecanice îmbunătățite pentru ingineria tisulară. Hidrogelurile au fost preparate prin metode fizice sau chimice și au fost caracterizate din punct de vedere structural și

morfologic, analizându-se comportarea reologică, cinetica umflării în apă și soluții saline. De asemenea, s-au efectuat studii privind eliberarea sulfatului de neomicină și s-a evaluat bioadezivitatea hidrogelurilor hibride polimer/proteină.

Capitolul 6 prezintă formulări de hidrogeluri sensibile la temperatură destinate eliberării controlate de substanțe active. S-au studiat hidrogeluri compozite pe bază de Poloxamer 407 și pullulan ca potențiale biomateriale injectabile și s-au discutat gelifierea, în corelație cu diagrama de fază, comportarea la curgere și o serie de proprietăți biologice.

S-au investigat amestecuri de poli(alcool vinilic) și poliuretan în soluții apoase, fenomenele de asociere macromoleculară induse de curgere și tranziția sol-gel indusă de temperatură. S-au elaborat hidrogeluri multicomponente și s-a investigat răspunsul viscoelastic în diferite condiții de temperatură și de solicitări externe.

Hidrogelurile termosensibile pe bază de poliuretan au fost investigate ca potențiale vehicule pentru eliberarea unui antiinflamator, meloxicamul. S-au formulat diferite hidrogeluri utilizând matrici de poliuretan și hidroxipropil celuloză, diferiți promotori de absorbție și s-au testat uleiuri esențiale ca potențiali agenți antimicrobieni. S-au investigat aspecte structurale precum și comportarea reologică la solicitări continue și sinusoidale. Studiile privind eliberarea meloxicamului din hidrogelurile pe bază de poliuretan au identificat o serie de formulări optime care, din punct de vedere reologic și al eliberării de meloxicam se comportă similar cu produsele comerciale. Studiul a evidențiat un potențial aplicativ deosebit al hidrogelurilor termosensibile pentru încorporarea și administrarea topică de substanțe antiinflamatoare cu efect benefic în diferite afecțiuni, evitând astfel calea digestivă, care implică o serie de efecte secundare. Aceste sisteme se pot diversifica și ar putea conduce la un produs comercial nou.

Capitolul 7 include concluziile generale ale studiilor efectuate pe parcursul elaborării tezei de doctorat, precum și perspective de dezvoltare a unor noi biomateriale. Investigarea hidrogelurilor pe bază de polimeri biocompatibili încărcate cu diferite principii active deschide noi oportunități pentru valorificarea unor sisteme terapeutice cu cedare controlată a substanțelor active și găsirea unor alternative comerciale pentru produse farmaceutice de interes larg (pansamente pentru răni sau geluri pentru tratamente antiinflamatorii).

Pentru realizarea studiilor, au fost consultate 435 referințe bibliografice care sunt prezentate la final. În anexă sunt incluse lucrările științifice elaborate pe parcursul pregătirii tezei.

REZULTATE ORIGINALE PRIVIND MATERIALE POLIMERE CU APLICAȚII BIOMEDICALE

CAPITOLUL 4. STUDII PRIVIND COMPORTAREA ÎN SOLUȚIE A POLIMERILOR, PROTEINELOR ȘI PEPTIDELOR

În acest capitol s-au studiat interacțiunile care se manifestă în soluții ce conțin o proteină globulară model, albumina serică bovină (BSA) și polimeri solubili în apă: un polimer sintetic, poli(alcool vinilic) (PVA) și o polizaharidă, pullulanul (PULL). De asemenea, s-au investigat soluții ce conțin amestecuri de proteină/tripeptidă (BSA/glutation redus, GSH). Concluziile acestui studiu au permis stabilirea condițiilor optime de preparare și investigare a biomaterialelor elaborate pe parcursul pregătirii tezei de doctorat. O parte din rezultatele prezentate în acest capitol au fost obținute cu suportul financiar al proiectului: *Conceperea de platforme peptidice moderne inspirate din lumea vie*, BioPascal (2020-2022).

4.2. Efectul unui cosolvent macromolecular „inert” asupra viscozității proteinelor globulare

Viscozitatea intrinsecă a fost evaluată prin intermediul a două modele aplicate datelor experimentale. O metoda tradițională, utilizată frecvent în cazul soluțiilor diluate de polimeri, a reprezentat-o ecuația Huggins:

$$\eta_{sp}/c = [\eta] + k_H [\eta]^2 c \quad (4.1)$$

$[\eta]$ reprezintă viscozitatea intrinsecă, η_{sp} este viscozitatea specifică, $\eta_{sp} = \eta_r - 1$ (η_r este viscozitatea relativă, $\eta_r = t/t_0$, t și t_0 reprezintă timpul de curgere al soluției și respectiv al solventului), k_H este constanta Huggins, o măsură a interacțiunii dintre lanțurile polimere și solvent, iar c reprezintă concentrația solutului. În acest studiu, c reprezintă concentrația totală de macromolecule dizolvate (PVA și BSA, PULL și BSA sau BSA și GSH).

În cadrul studiilor efectuate s-a aplicat și un nou model care a fost dezvoltat de Prof. B.A. Wolf [224,236] și se bazează pe dependența viscozității relative (η_r) de concentrația solutului:

$$\ln \eta_r = \frac{\tilde{c} + \alpha \tilde{c}^2}{1 + \beta \tilde{c} + \gamma \tilde{c}^2}, \quad \tilde{c} = c [\eta] \quad (4.2)$$

α , β , γ sunt parametri specifici sistemului. Parametrul α este corelat cu frecarea dintre macromolecule în timpul curgerii și depinde de compoziția sistemului. Parametrii β și γ iau în

considerare modificările volumului liber pentru soluțiile de polimeri, în comparație cu solventul pur; aceste modificări apar atunci când macromoleculele sunt adăugate în masa de solvent.

Figura 4.3 evidențiază o comportare ideală a amestecului PVA/BSA în soluție de sare la 37°C și pH = 7,4: dependența viscozității intrinseci (obținută prin aplicarea metodelor Huggins și Wolf) de compoziția solutului (w_{BSA} - fracția gravimetrică a BSA în amestecul PVA/BSA) respectă legea aditivității. S-au determinat parametrii de miscibilitate care au sugerat faptul că în soluție există ghemuri macromoleculare izolate, formate fie din lanțuri de PVA, fie din macromolecule de BSA. Interacțiunile dintre macromolecule diferite sunt nefavorabile, iar întrepătrunderea acestora este exclusă în soluții saline. Astfel, la diluție infinită, pentru o soluție care conține amestec de PVA și BSA, macromoleculele izolate de PVA coexistă cu macromoleculele izolate de BSA [233].

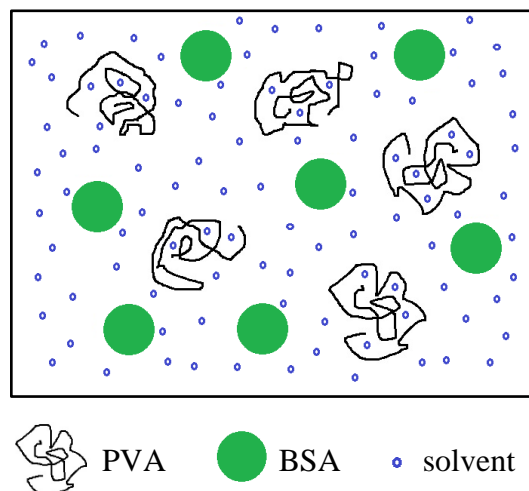
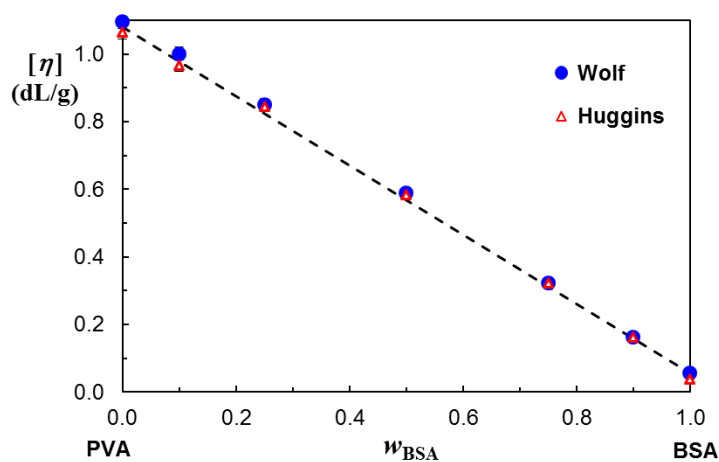


Figura 4.3. Viscozitatea intrinsecă în funcție de w_{BSA} pentru amestecuri de PVA/BSA în soluții saline, determinată prin metodele Huggins și Wolf [233].

Figura 4.7. Prezentarea schematică a BSA în soluție diluată, în prezența lanțurilor „inerte” de PVA [233].

La pH = 7,4 (peste punctul izoelectric al proteinei), macromolecula de BSA este încărcată negativ și își modifică structura terțiară. În soluții apoase, unele dintre moleculele de apă penetrează în structura globulară a proteinei, determinând o creștere a presiunii osmotice. Cantitatea de apă care apare în structurile globulare ale BSA poate crește de peste 8 ori pentru pH bazic față de punctul izoelectric [83]. Prin adăugarea de sare, conformația dimerului BSA este stabilizată, iar apariția fenomenelor de agregare este redusă [240].

4.3. Interacțiuni asociative între pullulan și albumina serică bovină

Valorile viscozității intrinseci, $[\eta]$, pentru amestecurile PULL/BSA dizolvate în ser fiziologic sunt puternic influențate de compoziția PULL/BSA (figura 4.13). Indiferent de compoziție, viscozitatea intrinsecă prezintă abateri pozitive de la regula aditivității pentru toate amestecurile PULL/BSA, abaterea maximă se atinge pentru amestecul cu $x_{BSA}^* = 0.82$; δ prezintă o scădere bruscă la adăugarea suplimentară de proteină în amestecul PULL/BSA pentru $x_{BSA} > x_{BSA}^*$.

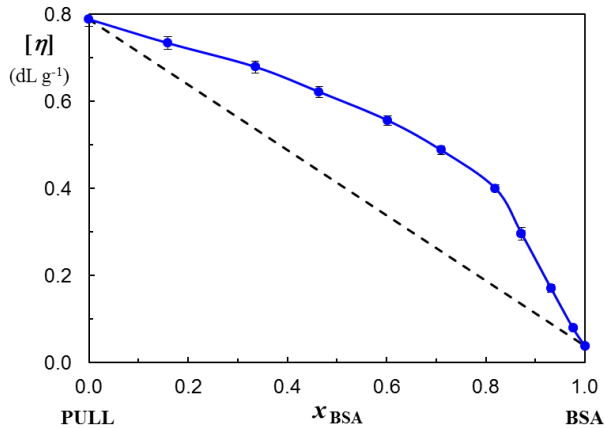


Figura 4.13. Variația viscozității intrinseci în funcție de fracția molară de BSA (x_{BSA}) pentru amestecurile PULL/BSA în soluție salină la temperatura de 37°C și pH = 7,4 [254].

Pentru a evalua interacțiunile macromoleculor din sistem cu moleculele de solvent s-a determinat experimental presiunea osmotică (π) pentru soluții de PULL, BSA și amestecuri PULL/BSA în condiții termodinamice similare cu cele de la studiul de viscozimetrie (soluție salină 0,15 M NaCl, temperatura de 37°C, pH = 7,4). Curbele privind variația presiunii osmotice reduse (π/c) în funcție de concentrație sunt prezentate în figura 4.17.

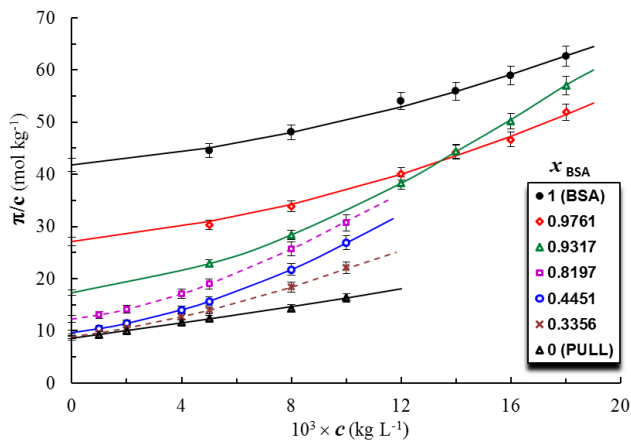


Figura 4.17. Dependența presiunii osmotice reduse (π/c) de concentrația solutului (c) pentru soluții de PULL, BSA și amestecuri PULL/BSA de diferite fracții molare a BSA (x_{BSA}), în soluție salină la temperatura de 37°C și pH = 7,4 [254].

Cu excepția soluțiilor de PULL pentru care dependența π/c vs. c este liniară, toate sistemele care conțin BSA prezintă deviații pozitive de la liniaritate la creșterea concentrației, sugerând manifestarea unor interacțiuni intermoleculare între moleculele de solut.

Presiunea osmotică redusă (π/c) poate fi descrisă de următoarea ecuație virială:

$$\frac{\pi}{c} = RT \left(\frac{1}{M_n} + A_2 c + A_3 c^2 + \dots \right) \quad (4.13)$$

unde R este constanta gazelor, $8.3145 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, iar T este temperatura absolută, A_2 și A_3 reprezintă cel de-al doilea și cel de-al treilea coeficient virial. Conform legii van't Hoff, primul termen ($1/M_n$) se referă la comportarea ideală a soluției, iar coeficienții viriali (A_2, A_3 sau alți termeni superiori din dezvoltarea virială) țin cont de abaterile de la idealitate. În cazul soluțiilor diluate (când macromoleculele sunt izolate, înconjurate doar de molecule de solvent), A_2 reprezintă o măsură a interacțiunii polimer-solvent, iar A_3 are o valoare neglijabilă. În general, valori pozitive pentru A_2 se obțin pentru sisteme în care interacțiunile polimer/solvent sunt favorabile.

În cazul sistemului studiat, valorile A_2 și A_3 pentru amestecuri PULL/BSA (figura 4.18) sugerează faptul că interacțiunile solventului cu segmentele macromoleculare sunt puternice, dar se manifestă și interacțiuni între macromolecule care determină deviații pozitive de la aditivitate. A_3 are o valoare foarte scăzută pentru sistemele binare PULL/solvent sau BSA/solvent, dar crește pentru amestecuri de PULL/BSA/solvent, atingând o valoare maximă în vecinătatea $x_{BSA} = 0,8$.

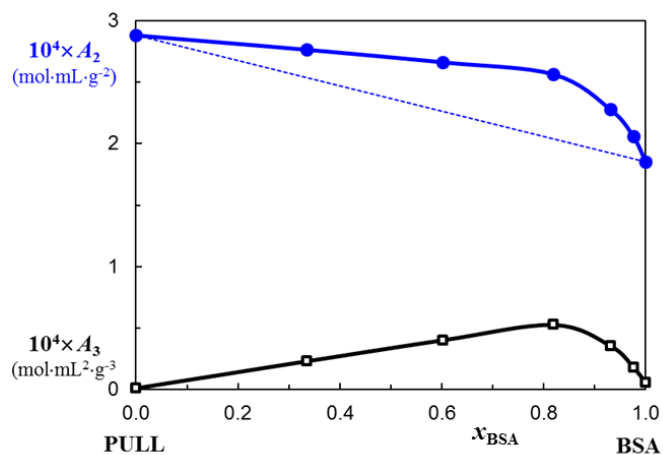


Figura 4.18. Parametrii A_2 și A_3 în funcție de compoziția amestecului PULL/BSA (x_{BSA} = fracția molară a BSA în amestec) în soluție salină la 37°C și $\text{pH} = 7,4$ [254].

Dependența neliniară a presiunii osmotice de concentrație (figura 4.17) este atribuită pe de o parte ecranării electrostatice în prezența electrolitului cu molecule mici, iar pe de altă parte presiunii osmotice, care acționează asupra macromoleculei de proteină și este indusă de cosolut [83] care, în sistemul studiat, este pullulanul. Presiunea osmotică este un factor fiziologic și un parametru important clinic pentru fluidele biologice [259].

Raportul $g = A_3 / (nA_2^2)$ este considerat o constantă universală (n este numărul de unități structurale). În prezentul studiu, a fost calculată o valoare medie $g = 0,302$ pentru amestecurile PULL/BSA, valoare ușor mai mare decât cea prezisă teoretic. Corelarea datelor termodinamice cu parametrii electrocinetici sugerează formarea unor complecși intermoleculari în soluțiile de PULL/BSA prin intermediul cationilor prezenți în soluție.

4.4. „Aglomerarea” macromoleculară a proteinelor în prezența polimerilor neutri

S-a analizat posibilitatea de a evidenția aglomerarea macromoleculară a BSA în soluție, în prezența altor macromoleculă (PVA, pullulan) sau a unei tripeptide (glutation redus), și de a cuantifica gradul de aglomerare macromoleculară prin intermediul unui parametru adimensional, $c \times [\eta]$. În figura 4.22 este exemplificată o astfel de reprezentare a viscozității specifice în funcție de $c \times [\eta]$ pentru soluții de BSA în prezența PULL [267]. Aglomerarea macromoleculară determină o creștere mai pronunțată a viscozității specifice cu creșterea concentrației de solut și trebuie luată în considerare în cazul fluidelor biologice.

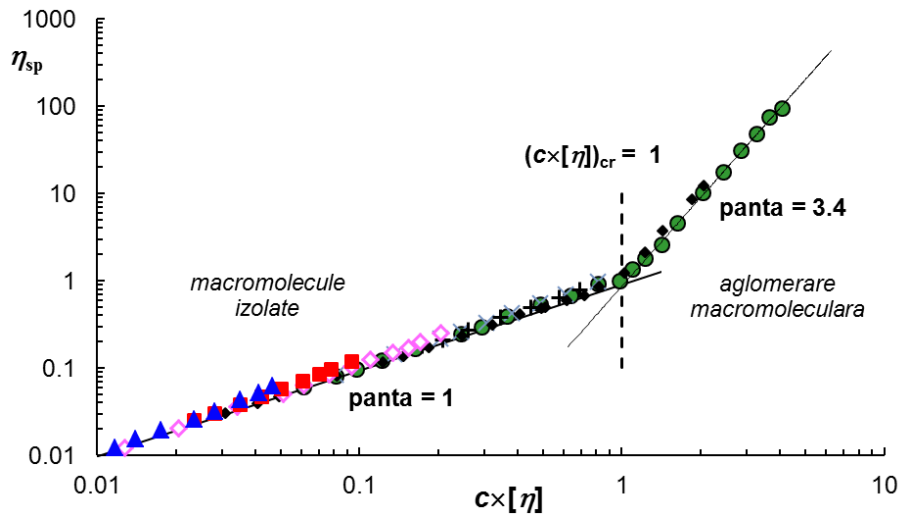


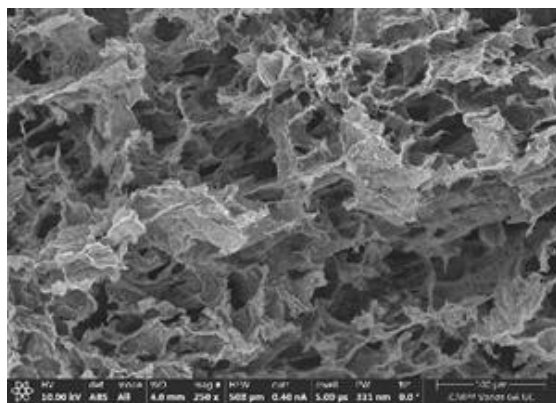
Figura 4.22. Dependența viscozității specifice, η_{sp} , în funcție de parametrul adimensional $c \times [\eta]$ pentru soluții de BSA în prezența PULL [267].

CAPITOLUL 5. HIDROGELURI COMPOZITE PE BAZĂ DE POLI(ALCOOL VINILIC) ȘI BIO(MACRO)MOLECULE

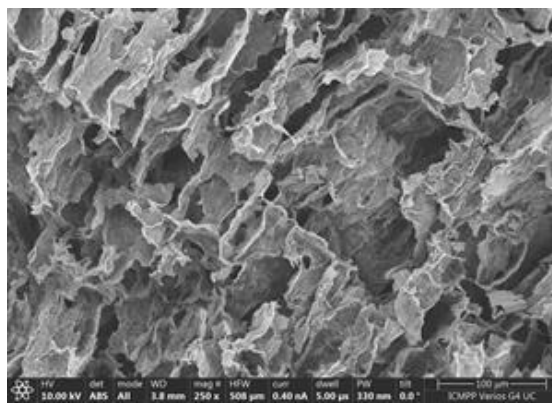
5.1 Hidrogeluri compozite pe bază de poli(alcool vinilic) și pullulan ca potențiale suporturi pentru aplicații de tip pansament

Studiile au vizat prepararea și investigarea hidrogelurilor ce conțin un polimer sintetic (PVA) și o polizaharidă (PULL) cu diferite compoziții, care au fost obținute prin tehnica îngheț/dezgheț aplicată unor soluții apoase de 5% polimer, comparativ cu hidrogeluri hibride ce conțin și argilă (0.5% wt. Laponit® RD). A fost investigat efectul adăugării polizaharidelor și argilei asupra proprietăților morfologice și reologice ale hidrogelului de PVA și a fost urmărită comportarea la umflare și capacitatea acestora de a elibera substanțe active.

Analiza imaginilor SEM a confirmat faptul că ambele tipuri de hidrogeluri (în absența și în prezența argilei) prezintă o structură poroasă cu pori interconecțați. Adăugarea de PULL scade treptat valoarea G' datorită scăderii numărului punctelor de joncțiune între macromoleculele de PVA, care contribuie la formarea zonelor cristaline. În prezența argilei, interacțiunile PVA-PVA sunt diminuate, influențând tăria rețelei după aplicarea ciclurilor de îngheț/dezgheț (figura 5.5).



(a)



(b)

Figura 5.1. Imagini SEM ($\times 250$) pentru hidrogeluri cu un conținut de 60% PVA/ 40% PULL în (a) absența sau (b) prezența de argilă [287].

Gradul de umflare în soluție de 0,15 M NaCl la 37°C este mai mare în absența argilei, când este favorizată eliberarea substanței active, în studiul de față sulfatul de neomicină, un antibiotic cu acțiune bactericidă și bacteriostatică (figura 5.7).

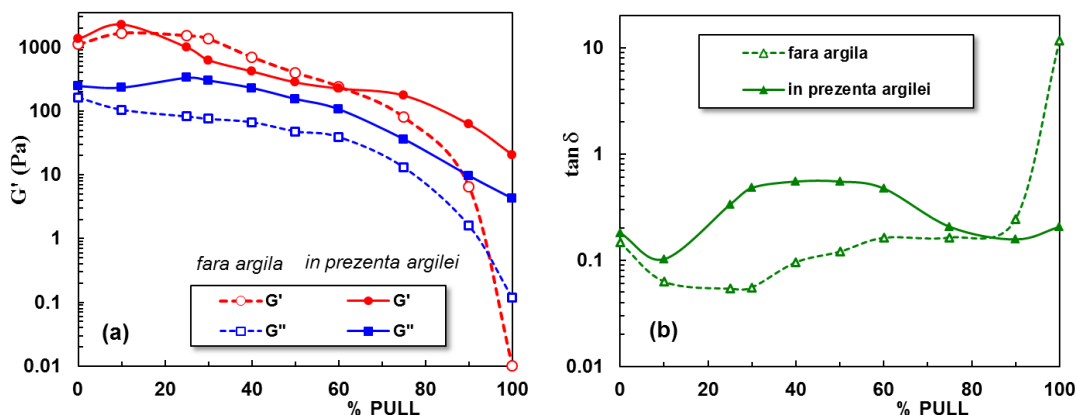


Figura 5.5. (a) Modulul elastic, G' , și (b) tangenta unghiului de pierderi, $\tan \delta$, în funcție de compoziția amestecului PVA/PULL pentru hidrogeluri fără argilă și hidrogeluri hibride polimer/argilă, după 3 cicluri de îngheț/dezghet ($\omega=1$ rad/s, $\gamma = 1\%$, 37°C) [287].

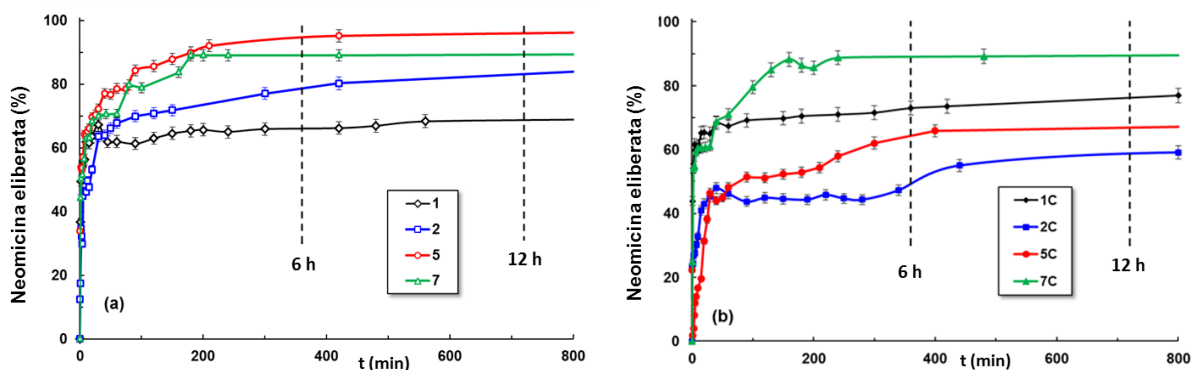


Figura 5.7. Cinetica de eliberare a neomicinei din hidrogeluri în soluții saline la temperatura de 37°C și pH = 7,4: (a) hidrogeluri PVA/PULL; (b) hidrogeluri de PVA/PULL/argilă [287].

Modelele dezvoltate de Peppas și colab. [293,294] au permis o descriere a cineticii de eliberare a neomicinei. Modelul Peppas-Sahlin descrie mecanismul de eliberare *in vitro* a substanțelor active din hidrogelurile PVA/PULL în absența argilei, în timp ce modelul Korsmeyer-Peppas este mai potrivit pentru hidrogelurile de argilă/PVA/PULL. În cazul hidrogelurilor PVA/PULL, atât în prezența cât și în absența argilei, s-au obținut valori $n < 0.45$, ceea ce sugerează o difuzie pseudo-Fickiană cu eliberarea lentă a substanței active.

5.2. Hidrogeluri hibride pentru eliberarea de substanțe active: efecte sinergetice ale polimerilor naturali/sintetici și proteine

S-au elaborat noi hidrogeluri poroase pe bază de PVA, PULL, proteină (BSA sau lizozimă) și o peptidă (GSH). Formarea rețelelor hibride polimer natural/polimer sintetic/proteină/peptidă de diferite compoziții este guvernată de multiple interacțiuni, care s-au stabilit între grupele –OH ale PVA în urma aplicării a trei cicluri îngheț/dezgeț, formarea de legături S-S între GSH și proteine, respectiv legături de hidrogen între PVA și PULL. Morfologia hidrogelurilor poate fi reglată prin selectarea compoziției adecvate și a numărului de cicluri de îngheț/dezgeț. Analiza SEM a evidențiat o structură de rețea cu pori interconectați cu dimensiuni cuprinse între 15,7 μm și 24,5 μm (tabelul 5.3). Măsurătorile reologice efectuate în regim de forfecare oscilatorie și continuă au evidențiat o diminuare a parametrilor reologici pentru hidrogelurile PULL/PVA în prezența BSA.

Tabelul 5.3. Compoziția și unele caracteristici ale hidrogelurilor hibride [301].

Codul probei	Compoziție ^a		Rheologie ^b			Umflare in PBS ^b		Dezintegrare ^c
	w_{BSA} (wt. %)	SEM Dimensiune medie pori (μm)	G' ^b (Pa)	η_0 (Pa·s)	σ_0 (Pa)	S_{max} (%)	n_s	Pierdere de masă (%)
1	0	21,1±2,6	2230	8540	63	224	0,0207	0,88
2	5	18,6±3,3	2650	11500	170	356	0,0437	1,24
3	10	21,8±3,1	1726	6560	41	364	0,0148	3,35
4	30	18,9±1,9	799	2830	21	468	0,1205	5,78
5	50	15,7±2,2	174	844	8	457	0,0608	8,65
6	70	16,2±1,8	78,6	428	4	349	0,0459	36,14
7	90	24,5±1,7	22,6	54,7	1	256	0,0311	59,77
8 ^d	0	20,3±1,1 ^d	1340	5910	79	533	0,0866	2,42

^a Compoziția matricii polimere: 25% PULL, 75% PVA și 1 mM GSH

^b Condiții experimentale: temperatura de 37 °C, pH = 7,4

Analiza prin spectroscopie în infraroșu a confirmat prezența unor interacțiuni hidrofobe și legături de hidrogen (în special pentru conținut de BSA între 30% și 70%).

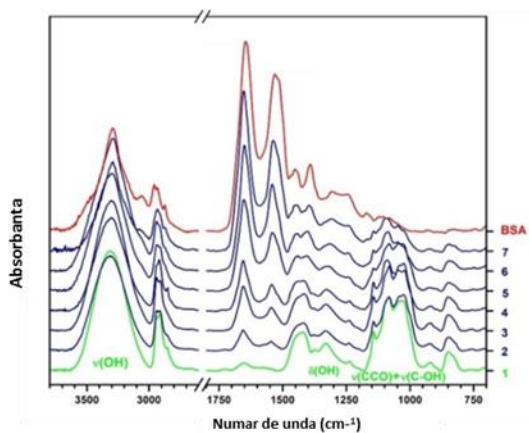


Figura 5.10. Spectrele FTIR ale hidrogelurilor PULL/PVA în absența și prezența BSA, comparativ cu spectrul BSA

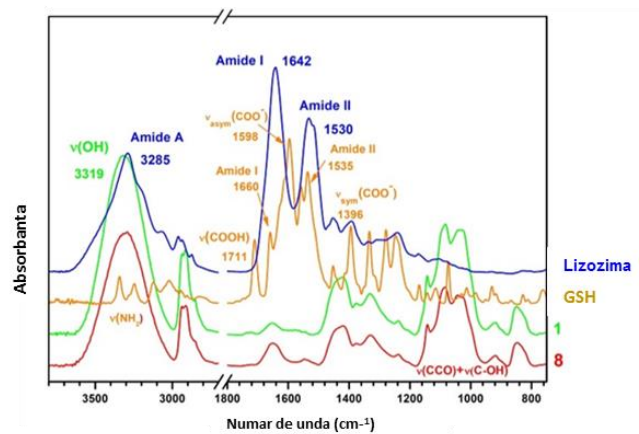


Figura 5.12. Spectrele FTIR ale hidrogelurilor PULL/PVA în absența și prezența lizozei, comparativ cu cele ale lizozei și GSH [301].

Eliberarea unei substanțe active (sulfatul de neomicină) este influențată de dimensiunea porilor hidrogelului și de tăria acestuia (figura 5.17).

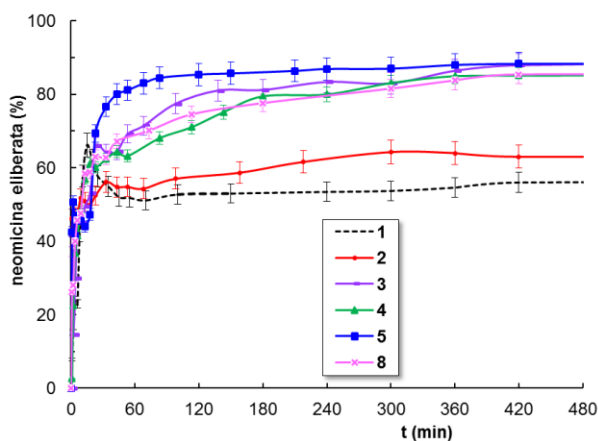


Figura 5.17. Profilul de eliberare cumulativă a neomicinei (% din cantitatea totală încorporată) din probe de hidrogel hibrid la 37°C, pH = 7,4 [301].

Au fost testate o serie de modele cinetice pentru o descriere adecvată a datelor experimentale privind cinetica de eliberare. Modelul Korsmeyer-Peppas este cel mai adecvat pentru a descrie mecanismul de eliberare *in vitro* a neomicinei (valori scăzute ale criteriului Akaike, AIC).

Aceste hidrogeluri hibride prezintă sinergie și sunt potrivite pentru aplicații de tip pansament și ar putea fi matrici eficiente pentru încorporarea și administrarea de antibiotice.

5.3. Hidrogeluri poroase pe bază de PVA, HPC și BSA pentru aplicații de tip pansament

În această etapă, s-au diversificat hidrogelurile hibride utilizând un derivat de celuloză, hidroxipropil celuloza (HPC). Astfel, s-au preparat noi hidrogeluri prin tehnica îngheț/dezgeț, pentru diferite compoziții ale amestecurilor PVA, HPC și BSA în prezența glutathionului redus (GSH) care formează punți S-S cu BSA. Formarea hidrogelului a fost monitorizată prin măsurători reologice și s-a constatat că pentru 0% BSA, 10% BSA și 50% BSA, 3 cicluri de îngheț/dezgeț sunt optime pentru formarea rețelei; pentru sistemul ce conține 90% BSA au fost aplicate suplimentar 5 cicluri îngheț/dezgeț, pentru formarea structurii de rețea.

Tabelul 5.5. Compoziția probelor și principalele caracteristici determinate pentru hidrogeluri ce conțin ca matrice polimeră 10% HPC și 90% PVA și conținut variabil de BSA [304].

Cod probă	w_{BSA}^* (wt.%)	Dimensiune medie pori (μm)	G'^{***} (Pa)	η_0 (Pa·s)	σ_0 (Pa)	S_{max} (%)	Pierdere de masă (%)	n_s	R^2
0-3	0	21,13	2800	5920	128,14	870	1,12	0,219	0,974
1-3	10	20,70	1690	2200	32,34	1023	4,56	0,238	0,961
3-3	30	22,48	746	1411	27,52	1139	8,15	0,257	0,998
5-3	50	19,28	466	1670	32,62	1222	13,78	0,319	0,959
5-8	50	23,59	778	2869	41,88	-	-	-	-
9-3	90	-	20,6	28,5	1,02	-	-	-	-
9-8	90	26,71	119	1310	24,62	1268	79,16	0,369	0,985

* w_{BSA} – procent gravimetric de BSA adăugat la matricea polimeră; la fiecare probă s-au adăugat 30 mg/dL GSH

**37°C, $\omega = 1$ rad/s, $\gamma = 1\%$

Adăugarea de BSA în matricea polimeră (PVA/HPC) determină o reducere a modurilor viscoelastici și a viscozității probelor. Astfel, în experimentele de baleiaj de frecvență, pentru probele cu conținut de BSA între 10% și 50%, supuse la 3 cicluri de îngheț/dezgheț, modulul de elasticitate, G' (figura 5.21) și modulul viscos, G'' , sunt aproape independenți de frecvența de oscilație (ω). Un număr mai mare de cicluri de îngheț/dezgheț aplicat sistemelor cu un conținut mai mare de BSA determină formarea unei rețele mai puternic structurate.

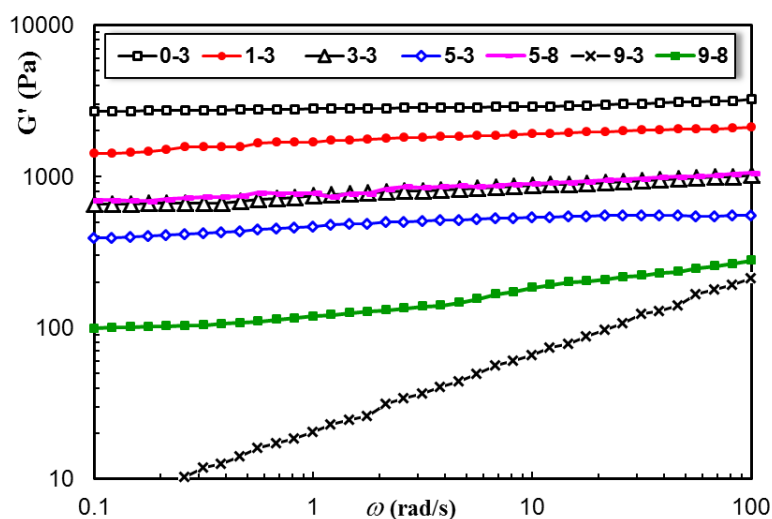


Figura 5.21. Influența conținutului de BSA asupra modului elastic pentru hidrogeluri PVA/HPC/BSA în teste de baleiaj de frecvență (37°C , $\gamma = 1\%$) [304].

Hidrogelurile au fost testate ca vehicule pentru eliberarea *in vitro* a sulfatului de neomicină. Creșterea cantității de BSA din hidrogel determină o creștere a vitezei de eliberare a principiului activ. Eliberarea substanței active este determinată de viteza de difuzie a fluidului și de viteza de relaxare a lanțului în rețeaua hidrogelului. Astfel, hidrogelurile proiectate au capacitatea de a reține substanța activă și de a o elibera ulterior într-o manieră controlată.

5.4. Hidrogeluri hibride polimer/proteină cu proprietăți mecanice reglabile

Au fost concepute **rețele multicomponente proteină/polimer prin dublă reticulare**: gelifiere fizică a PVA și chimică a BSA. S-au obținut hidrogeluri hibride, stabile, care au combinat proprietățile mecanice superioare ale rețelilor fizice de PVA obținute prin aplicarea de cicluri de

îngheț/dezgeț cu caracteristicile biologice (bioadezivitate, biocompatibilitate) ale BSA, proteina fiind reticulată chimic în prezență de genipin și glutation redus.

Tabelul 5.7. Compoziția probelor de hidrogel investigate, exponentul de difuzie (n_s) și pierderea în greutate după 10 zile în mediu apos [339].

Numărul probei	Conținutul de polimer și proteine în 10g de soluție inițială ¹⁾		Numărul de cicluri aplicate de îngheț/dezgeț	Conținut de genipin (mmol/L)	n_s	Pierderea în greutate (%)
	PVA (g)	BSA (g)				
1	0,5	-	3	-	0,1111	0,45
2	0,45	0,05	3	0,565	0,1278	0,48
3	0,35	0,15	3	0,565	0,1133	0,74
4	0,25	0,25	3	0,565	0,3249	1,82
5	0,25	0,25	5	0,565	0,0915	1,39
6	0,15	0,35	5	1,13	0,0437	1,16

¹⁾ La soluțiile inițiale de PVA/BSA s-au adăugat GSH (0,15%) și glicerină (0,05%).

Figura 5.26 prezintă comportarea mecanică a hidrogelurilor hibride de diferite compoziții în testele de compresie uniaxială (când a fost aplicată o forță nominală de 450 N). La toate hidrogelurile se observă o comportare elastică, cu un grad ridicat de rezistență mecanică, deoarece au susținut valori de compresie peste 80%, fără a dezvolta fisuri sau modificări structurale ale rețelei de gel (figura 5.26a). Acest lucru indică un nivel remarcabil de flexibilitate și integritate structurală, chiar și sub acțiunea unor forțe de compresie semnificative. Introducerea BSA (până la 30%) în matricea de polimer sintetic (PVA) și reticularea proteinei cu genipin a condus la o creștere a rezistenței la compresie, așa cum este ilustrat în figura 5.26b. Valorile modulilor de compresie pentru hidrogelurile de PVA și PVA/BSA, calculate din panta porțiunii liniare inițiale în profilele $\sigma - \varepsilon$ (figura 5.26c), au fost reglate prin modificarea raportului dintre PVA și BSA sau prin adăugarea unei cantități mai mari de genipin. Creșterea conținutului de genipin și BSA (proba 6) determină o valoare a modulului elastic de 14,33 kPa, fiind în același interval cu cele obținute pentru proba 3, dar cu un grad mai mare de recuperare (43,77% - proba 6) comparativ cu 28,42% corespunzător probei 3 (figura 5.26d).

Valorile modului elastic la compresie între 14 kPa și 50 kPa sugerează faptul că aceste hidrogeluri sunt potrivite pentru repararea și regenerarea țesuturilor la solicitări mecanice reduse și medii ca intensitate [342,343].

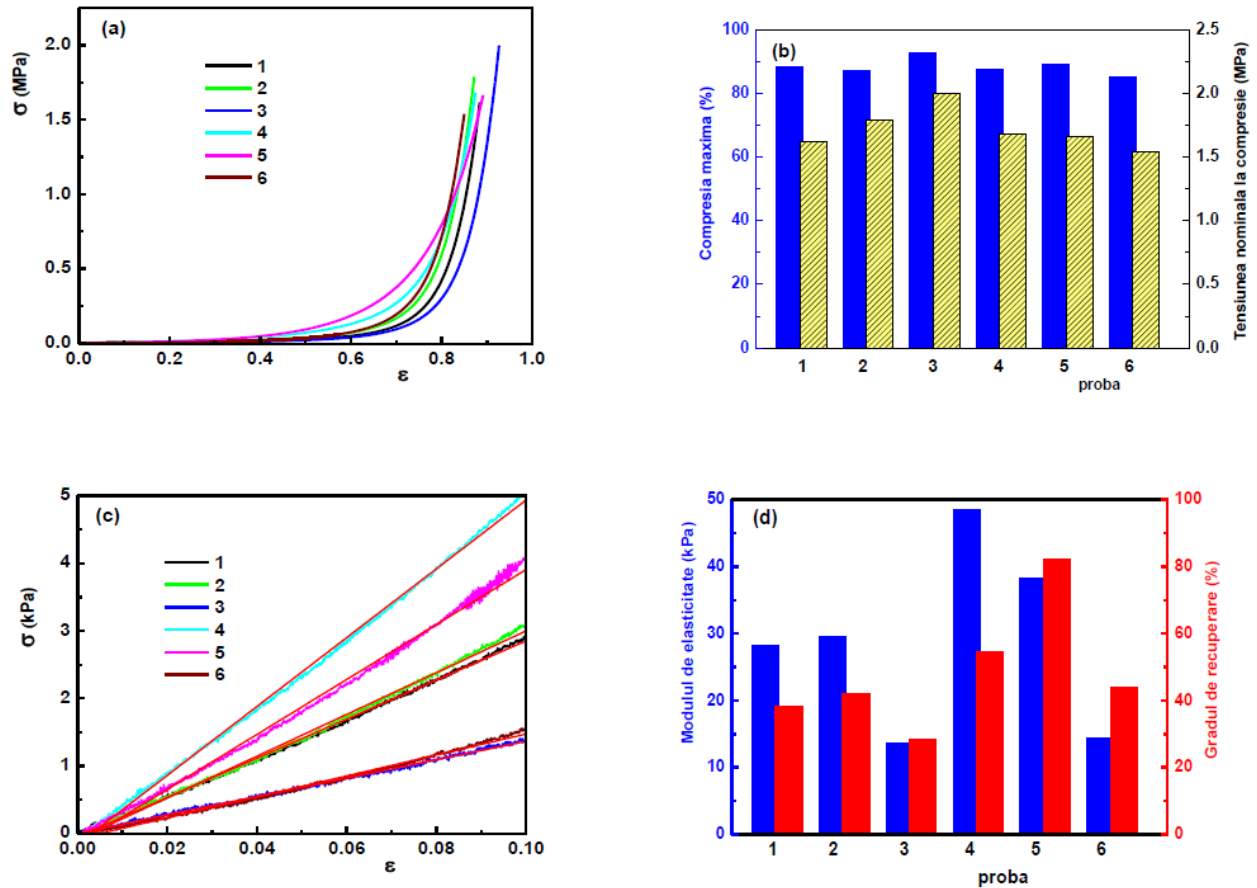


Figura 5.26. Proprietățile mecanice ale hidrogelurilor de PVA/BSA: (a) Profiluri de tensiune-deformare nominală la compresie; (b) Valorile tensiunii nominale de compresie (coloanele albastre) și compresia maximă susținută (coloanele galbene); (c) Porțiunea liniară inițială din curbele tensiune-deformare utilizată pentru a determina modulul elastic; liniile roșii indică dependența liniară descrisă de datele experimentale; (d) Valorile modului elastic (coloanele albastre) și ale gradului de recuperare (coloanele roșii) [339].

Încorporarea BSA și a tripeptidei induce proprietăți adezive superioare hidrogelurilor de PVA (figura 5.29), îmbunătățind compatibilitatea acestora cu organismele vii [339].

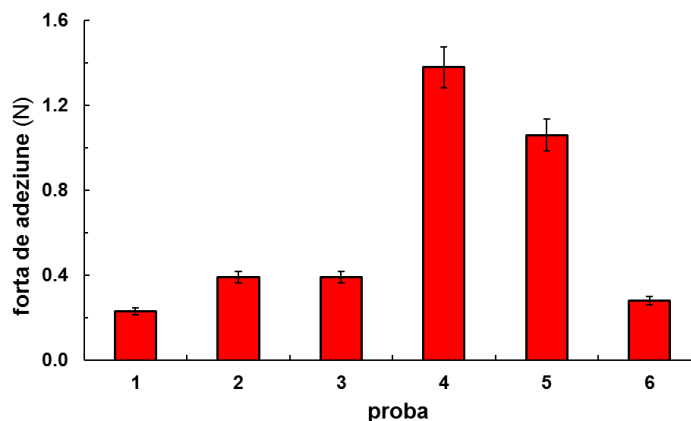


Figura 5.29. Forța de adeziune pentru hidrogeluri de PVA (proba 1) și PVA/BSA (probele 2 – 6) [339].

CAPITOLUL 6. GELURI TERMOSENSIBILE CA POTENȚIALE BIOMATERIALE INJECTABILE SAU SISTEME PENTRU ELIBERARE DE SUBSTANȚE ACTIVE

Scopul investigațiilor prezentate în acest capitol a fost proiectarea și caracterizarea biomaterialelor injectabile sau geluri cu aplicare topică cu proprietăți hidrofile, biocompatibile și antimicrobiene, antiinflamatoare adecvate pentru ameliorarea diferitelor afecțiuni degenerative ale articulațiilor sau diferite afecțiuni ale tegumentului. În acest sens, au fost studiate două grupe de materiale: geluri pe bază Poloxamer P407 și rețele de poliuretan. Hidrogelurile obținute prezintă atât caracter hidrofil, cât și hidrofob, au o comportare de termogelifiere (lichid la temperatură scăzută, gel în condiții fiziologice) și pot fi utilizate ca excipienți (facilitează absorbția agenților terapeutici) sau matrici pentru produse farmaceutice / aplicații biomedicale.

O parte din rezultatele prezentate în acest capitol au fost obținute cu ajutorul unor materiale achiziționate cu suportul financiar al proiectelor: *Conceperea de platforme peptidice moderne inspirate din lumea vie*, BioPascal, (2020-2022) și *Parteneriate pentru transfer de cunoștințe în domeniul materialelor polimere folosite în ingineria biomedicală* (2016-2022).

6.3. Gelifierea indusă de temperatură în sisteme pe bază de PVA și poliuretan

S-au preparat și investigat amestecuri de PVA și poliuretan în soluție apoasă. Proba de poliuretan (PU) utilizată în acest studiu a fost sintetizată de doamna Dr. Luiza Grădinaru, Laborator Poliadiție și Fotochimie, Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iași.

Parametrii viscoelastici au fost urmăriți în testul de baleiaj de temperatură cu o viteză controlată de încălzire de 1°C/min, în regim oscilatoriu de deformare la o frecvență de oscilație de 1 rad/s și deformare de 1%. În aceste condiții, structura probei este influențată doar de temperatură. Figura 6.16 prezintă evoluția modului elastic, G' în funcție de temperatură, pentru soluții apoase 5% de PVA, PU și amestecuri de PVA/PU. Figura 6.17 prezintă un exemplu privind variația parametrilor viscoelastici pentru proba care conține 50% PU. La temperaturi mai mici de 50°C, se observă valori scăzute ale parametrilor G' și G'' , $G' < G''$ și $\tan \delta > 1$. La o temperaturi peste 45°C, în funcție de compoziția probei, se observă o variație în salt a parametrilor reologici și sistemul evoluează spre o structură de gel cu $G' > G''$ și $\tan \delta < 1$.

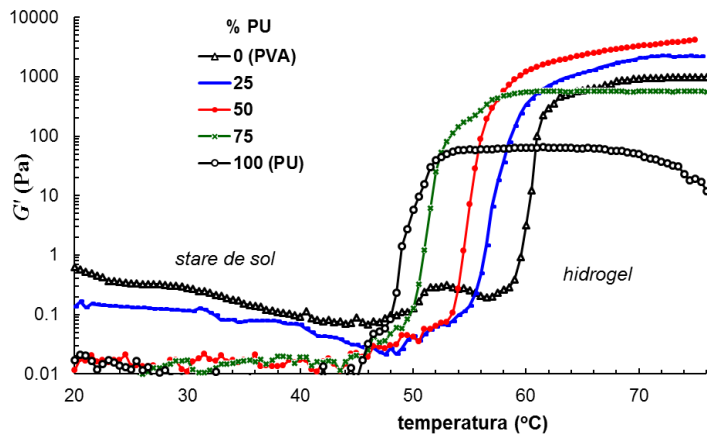


Figura 6.16. Dependența modului elastic în funcție de temperatură pentru probele de PVA, PU și amestecuri PVA/PU investigate [366].

Structura rețelei formate de poliuretan în prezența PVA la temperaturi ridicate este doar parțial termoreversibilă, interacțiunile stabilite între lanțurile PVA și micellele PU1 la temperaturi ridicate nu sunt complet distruse prin scăderea temperaturii la 5°C.

6.4. Hidrogeluri pe bază de poliuretan și poli(alcool vinilic)

În cadrul acestui studiu, s-au investigat efectele sinergetice ale amestecurilor a doi polimeri sintetici, poliuretan (PU1) și poli(alcool vinilic) (PVA), în stare de sol și sub formă de hidrogel, utilizând în principal investigații morfologice și reologice. Hidrogelurile compozite pe bază de poliuretan și PVA combină două concepte de auto-asamblare, rezultând o rețea elastică cu rezistență mecanică ridicată, datorită interacțiunilor hidrofobe ale lanțurilor de poliuretan la 37°C și a legăturilor de hidrogen, care se manifestă între lanțurile de PVA/PVA, PU/PU sau PU/PVA.

Capacitatea de refacere a structurii hidrogelurilor în urma aplicării unor solicitări externe a fost investigată cu ajutorul testelor de tixotropie în condiții de solicitare sinusoidală. Hidrogelurile de PVA pur și compozitul 50% PU/50% PVA au o structură robustă, cu rezistență mecanică bună. După ce a fost supus unor deformații mari (treptele 2 și 4, $\gamma = 100\%$), hidrogelul de poliuretan nu a avut capacitatea de a recupera integral structura inițială din starea de repaus.

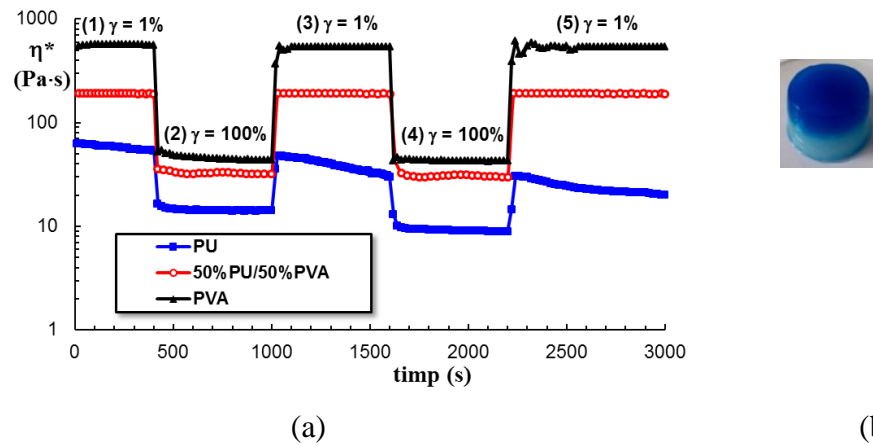


Figura 6.27. (a) Testul de tixotropie cu cinci trepte de deformare pentru hidrogelurile de PU1, PVA și 50% PU1/50% PVA la 37°C, la aplicarea succesivă de deformații la două nivele: 1% și 100%; (b) imaginea macroscopică a refacerii structurii hidrogelului compozit 50% PU1/50% PVA [368].

Elasticitatea ridicată a hidrogelurilor compozite PVA/PU poate fi observată în testele de fluaj și recuperare elastică (figura 6.30).

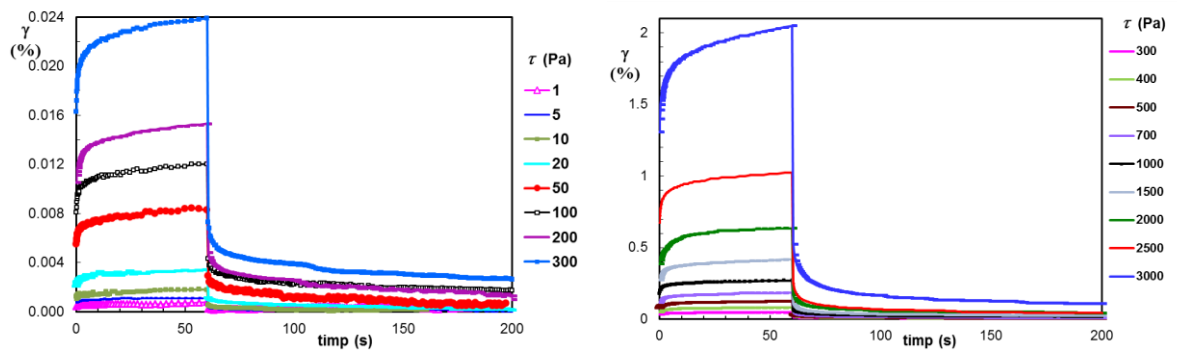


Figura 6.30. Curbele de fluaj și recuperare elastică pentru hidrogelul 50% PU1/50% PVA supus la diferite tensiuni de forfecare în timpul testului de fluaj (37°C) [368].

Elasticitatea ridicată și comportarea de auto-vindecare (capacitatea de a-și recupera structura și proprietățile după deformații foarte mari) sugerează potențialul ridicat al unor astfel de materiale pentru aplicații în ingineria tisulară.

6.5. Hidrogeluri termosensibile pe bază de poliuretan ca potențiale vehicule pentru eliberarea meloxicamului

Substanțele active din clasa antiinflamatoarelor nesteroidiene (AINS) au capacitatea de a reduce durerea și inflamația, fiind utilizate în tratamentul afecțiunilor degenerative ale articulațiilor, cum ar fi artrita sau osteoartrita (tratament pe termen scurt) și poliartrita reumatoidă sau spondilita anchilopoietică (tratament pe termen lung) având formulări farmaceutice variate, dar și diferite moduri de administrare: orală, injectabilă sau topică [393,394]. Administrarea AINS pe cale orală a fost asociată cu riscul de apariție a unor reacții adverse la nivelul tractului gastrointestinal [395], precum și insuficiență cardiovasculară sau renală, osteoporoză, etc. [396]. Utilizarea acestora pe termen lung scade speranța de viață în cazul pacienților cu artrită reumatoidă [393].

Astfel, s-a ales ca substanță activă meloxicamul (MX), antiinflamator și analgezic care are capacitatea de a inhiba selectiv ciclooxigenaza 2(COX-2) implicată în răspunsul inflamator [406,408–410]. Obiectivul propus a fost realizarea unor sisteme de administrare pe cale injectabilă sau transdermică, care să minimizeze efectele secundare în timpul eliberării de MX. Principala dificultate a încorporării MX în sisteme de eliberare adecvate este faptul că această substanță este insolubilă în apă. S-au testat mai multe posibilități de a solubiliza MX, iar solventul ales a fost un amestec de ser fiziologic (soluție de NaCl 0,15 M) cu soluție de NaOH.

Pentru matricea polimeră a fost utilizat în principal o probă de poliuretan (PU), dar s-au testat și amestecuri ale PU cu hidroxipropil celuloză (HPC). Principalul interes în realizarea acestor formulări a fost utilizarea unor sisteme omogene în stare de sol la temperatură scăzută (cu viscozitate mică), care să permită o încorporare ușoară a moleculelor de substanță activă, iar la temperatura ambiantă și în condiții fiziologice să fie în stare de gel.

MX are o capacitate scăzută de a penetra tegumentul, aspect ce se datorează naturii sale zwitterionice [401]. Pentru a îmbunătăți capacitatea de penetrare a MX, s-au folosit promotorii de absorbție care facilitează pătrunderea MX la nivelul pielii, acționând asupra funcției de barieră a tegumentului. Aceștia influențează activitatea termodinamică a MX în sistemul de eliberare și în consecință, permeabilitatea acestuia în timpul administrării. Promotorii de absorbție utilizați în

acest studiu au fost poli(etilen glicol), poli(vinilpirolidona), trietanolamina, precum și diferite uleiuri esențiale.



Figura 6.35. Hidrogel ce conține 25% poliuretan și 1% meloxicam (a) și 6 % ulei esențial de oregano (b)

6.5.4. Activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor de poliuretan în prezența uleiului esențial de oregano

Uleiul esențial de oregano a prezentat activitate antimicrobiană foarte bună împotriva tuturor tulpinilor de referință testate, zona de inhibare fiind de până la 46 mm în cazul particular al *Candida albicans* (tabelul 6.6 și figura 6.37). Aceste rezultate sunt în concordanță cu datele prezentate în literatura de specialitate [172]. Activitatea antimicrobiană (zona de inhibare) a hidrogelurilor este proporțională cu concentrația uleiului esențial de oregano (EO) încorporat în proba de poliuretan. În cazul formulărilor ce conțin 12% EO, nu există activitate antimicrobiană, excepție fiind asupra microorganismului *Escherichia coli* (zona de inhibiție de 7 mm). De asemenea se observă că în cazul formulărilor care conțin 20% EO, activitatea antimicrobiană crește (zonă de inhibiție până la 10 mm). Astfel, activitatea antimicrobiană a hidrogelurilor de PU este direct corelată cu concentrația de EO adăugat.

Tabelul 6.6. Activitatea antimicrobiană a uleiului esențial de oregano (control) și a hidrogelurilor de poliuretan încărcate cu MX, ce conțin 12% și 20% ulei esențial de oregano (EO).

Proba	Zona de inhibare (mm)			
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C.albicans</i>
Control (EO)	29.60 ± 1.27	29.75 ± 0.49	24.30 ± 1.55	45.95 ± 0.21
12% EO	-	7.05 ± 0.21	-	-
20% EO	9.05 ± 0.07	8.55 ± 0.49	9.05 ± 0.21	10.40 ± 0.14

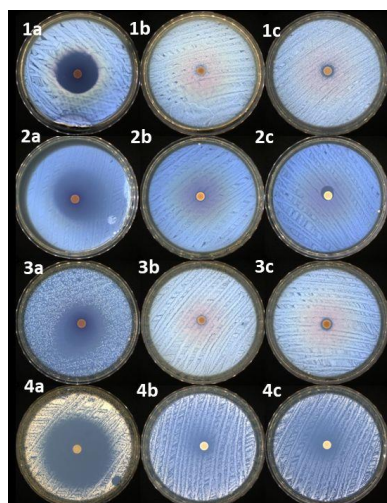


Figura 6.37. Activitatea antimicrobiană a gelurilor obținute din 25% poliuretan, încărcate cu 1% MX, în prezența uleiului de oregano:

1 – *S. aureus*, **2** – *E. coli*, **3** – *E. Faecalis* și **4** – *C. Albicans*: **(a)** – probă control (EO); **(b)** – hidrogel obținut din PU + 12% EO; **(c)** – sistem coloidal obținut din 20% EO.

6.5.5. Investigații FTIR pentru hidrogeluri de poliuretan încărcate cu MX

Analiza comparativă între spectrul în infraroșu al PU și al probei de PU încărcată cu MX evidențiază similitudine, cele mai multe benzi având același profil și poziție (figura 6.38). Semnalele MX sunt suprapuse peste cele ale PU, dar pot fi observate unele modificări spectrale în proba de PU încărcată cu MX datorită interacțiunilor intermoleculare evidențiate și prin modelare moleculară (figura 6.39) [199].

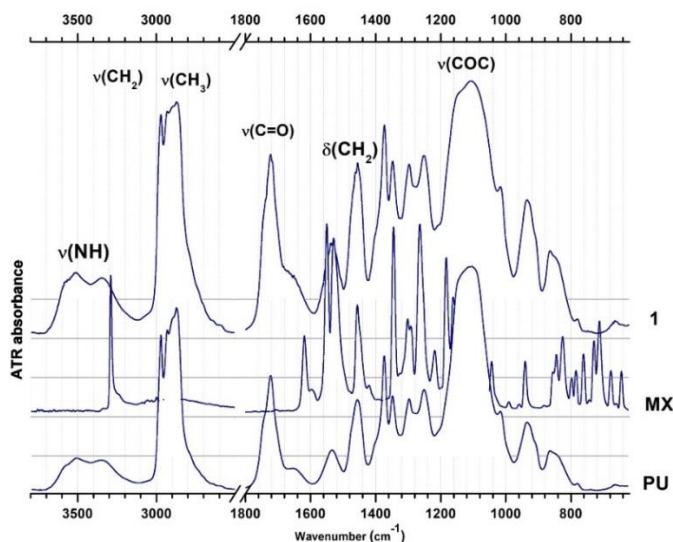


Figura 6.38. Spectrele ATR-FTIR ale PU, MX și PU încărcat cu MX [199].

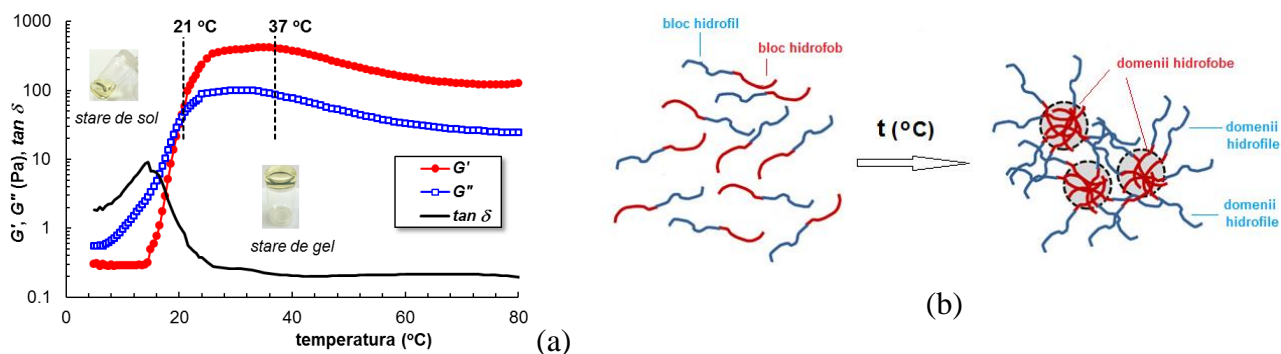


Figura 6.40. (a) Parametrii viscoelastici, G' , G'' și $\tan \delta$, în funcție de temperatură pentru proba de 25% PU încărcată cu MX pentru o viteză de încălzire de $0.5^\circ\text{C}/\text{min}$ ($\gamma = 1\%$, $\omega = 10 \text{ rad/s}$) [199]. (b) Reprezentarea schematică a gelifierii PU induse de temperatură.

În timpul testului de fluaj, răspunsul tranzitoriu la aplicarea tensiunii de forfecare (τ) constă într-o deformare elastică instantanee, o deformare elastică întârziată, urmate de curgere viscoasă. Gradul de recuperare elastică depinde de valoarea τ aplicată. În prezența EO s-a observat o comportare anti-fluaj (figura 6.46 b), care se datorează interacțiunilor hidrofoabe dintre PU și EO.

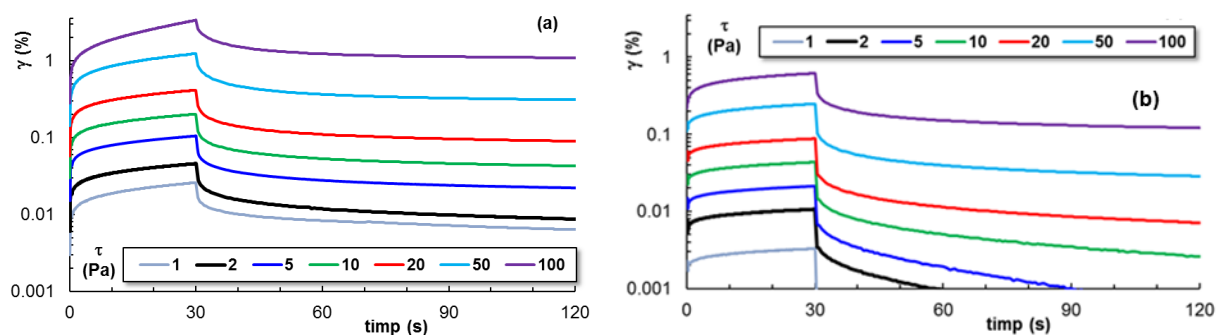


Figura 6.46. Evoluția deformăției în timpul testului de fluaj la diferite valori ale tensiunii de forfecare ($\tau \neq 0$) aplicate timp de 30 s, urmat de recuperare elastică ($\tau = 0$) pentru (a) 25% PU încărcată cu MX (b) 25% PU încărcată cu MX, la care s-a adăugat 3% EO [199].

6.5.8. Potențialul zeta și dimensiunile micelilor de poliuretan

În solventul utilizat în formularea hidrogelului, diametrul hidrodinamic mediu (D_H) al micelilor de PU înregistrează o ușoară creștere de la 32,8 nm la 35,8 nm când temperatura variază de la 25°C la 37°C. Interacțiunea cu MX contribuie la o creștere a valorii D_H a micelilor de PU (figura 6.47), la 37°C $D_H = 37 \text{ nm}$. Distribuția dimensiunilor este monomodală.

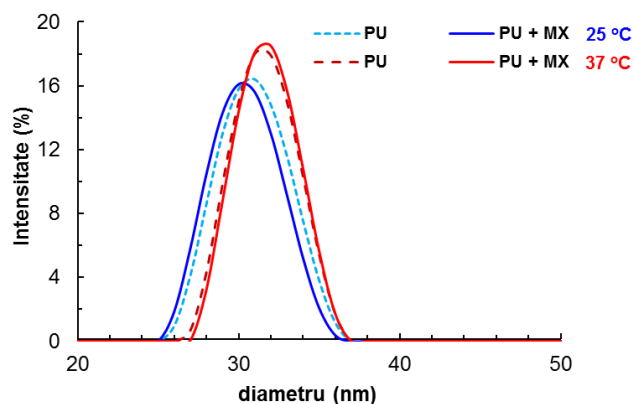


Figura 6.47. Distribuția dimensiunilor pentru micelile de PU2 în prezența (linia continuă) și absența (linia întreruptă) MX la 25°C (culoare albastră) și 37°C (culoare roșie) [199].

6.5.9. Eliberarea meloxicamului din hidrogeluri pe bază de poliuretan

Figura 6.48 prezintă cinetica de eliberare pentru 6 probe de hidrogel. Eliberarea cumulativă a substanței active în primele 24 de ore este între 40% și 70%, în funcție de compoziția probei. O eficiență foarte bună este înregistrată pentru proba 1 care este hidrogel de PU și 6 (hidrogel PU care conține și ulei esențial de oregano). Aceste formulări sunt potrivite ca geluri pentru aplicații topice.

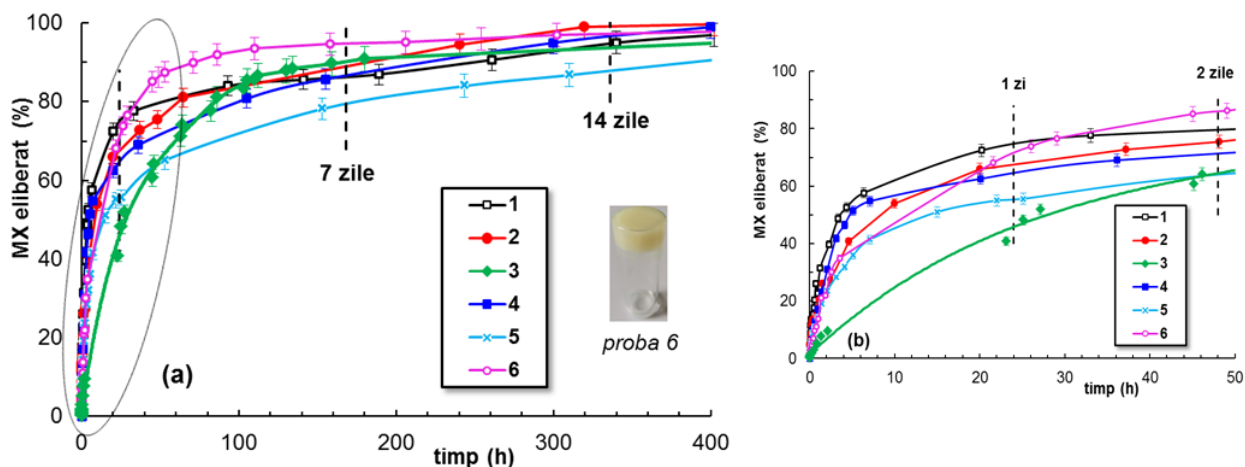


Figura 6.48. Cinetica de eliberare a MX din hidrogeluri pe bază de PU (37 °C, pH = 6): (A) Eliberarea cumulativă a MX timp de 400 de ore; (B) Detaliu al curbelor de eliberare în primele 50 de ore [199]; proba 1 - hidrogel de PU fără adaos de excipienți; proba 2: PEG 3%; proba 3: 3% PEG, 3% PVP; proba 4: 6.25% HPC; proba 5: 12,5% HPC; proba 6: 3% EO.

Adăugarea excipienților polimerici îmbunătățește profilul de eliberare, cu cedarea prelungită a substanței active fiind considerate formulări optime pentru realizarea pansamentelor și a dispozitivelor transdermice, ce necesită un profil de eliberare întârziat. Proba 5, care are un conținut ridicat de HPC, eliberează mai puțin de 50% din cantitatea de MX în primele 24 de ore, după care se înregistrează o eliberare lentă de MX timp de două săptămâni, până când MX eliberat atinge aproximativ 80%.

Cinetica de eliberare a MX din probele de hidrogel pe bază de PU a fost discutată folosind diferite modele matematice: Korsmeyer–Peppas, Peppas–Sahlin, Higuchi, ecuația de ordinul unu. În cazul hidrogelurilor pe bază de PU în prezența sau absența excipienților, $0.45 < n < 0.89$, ceea ce sugerează fenomene de transport anormale, controlate de difuzia substanței active prin rețea. Cantitatea disponibilă la locul aplicării, încorporarea omogenă și eliberarea MX (compus cu solubilitate redusă în apă) din hidrogeluri pe bază de PU, sugerează că aceste sisteme au un potențial aplicativ ridicat, însumând caracteristicile necesare pentru geluri topice. În general, gelurile topice încărcate cu MX prezintă efecte secundare sistemice reduse și o performanță mai bună împotriva durerii și inflamației, în comparație cu alte geluri ce conțin substanțe active AINS (diclofenac sau piroxicam) [430]. Matricea de PU2 termosensibil este un vehicul potrivit pentru eliberarea MX pe termen scurt. Adăugarea unor cantități mici de excipienți polimerici îmbunătățește eliberarea substanței active pe termen lung. În plus, încorporarea uleiurilor esențiale oferă multiple beneficii în eliberarea controlată a substanței active, îmbunătățind și activitatea biologică [199]. Astfel, hidrogelurile termosensibile pe bază de poliuretan pot fi considerate potențiale vehicule pentru eliberarea de compuși activi cu efecte antiinflamatorii, ca sisteme alternative la formele comerciale de dozare ale substanțelor antiinflamatoare nesteroidiene.

CAPITOLUL 7. CONCLUZII GENERALE

Studiile efectuate pe parcursul pregătirii tezei de doctorat au vizat următoarele aspecte:

I. Comportarea termodinamică și reologică a precursorilor utilizați la prepararea biomaterialelor.

S-au investigat amestecuri de polimeri/proteină în condiții fiziologice (soluție salină, 37°C, pH = 7,4).

S-au selectat doi polimeri solubili în apă, care sunt frecvent utilizați în proiectarea biomaterialelor: o polizaharida, pullulanul (PULL) și un polimer sintetic, poli(alcoolul vinilic) (PVA). Ca proteină model a fost selectată albumina serică bovină (BSA). Interacțiunile intermoleculare dintre polimer și proteină în soluție au fost investigate prin viscozimetrie, reologie și osmometrie.

Amestecuri PVA/BSA în soluție salină la temperatura de 37°C și pH = 7,4

1. S-a aplicat o versiune nouă a modelului Wolf care a permis determinarea viscozității intrinseci, $[\eta]$ și a interacțiunilor binare, ternare și cuaternare între macromolecule.
2. Volumul hidrodinamic specific respectă regula aditivității, iar condițiile termodinamice nu sunt favorabile formării ghemurilor macromoleculare mixte, lanțurile individuale de PVA coexistă în soluție cu macromoleculele izolate de BSA.
3. Datorită faptului că interacțiunile intermoleculare PVA/BSA sunt nefavorabile în soluție, la creșterea concentrației s-a observat o diminuare a viscozității amestecurilor, iar peste o anumită concentrație, apar fenomene de separare de fază.

Amestecuri PULL/BSA în soluție salină la temperatura de 37°C și pH = 7,4

1. În soluțiile saline diluate, repulsia electrostatică între moleculele de BSA este parțial ecranată și apar interacțiuni atractive între PULL și proteină, care sunt mediate de cationii din soluție (Na^+). Aceste interacțiuni au fost puse în evidență prin intermediul parametrilor viscozimetrici și a coeficienților viriali determinați prin osmometrie.
2. Pentru sistemele care conțin BSA au fost observate abateri mari de la comportarea ideală. Acest efect a fost atribuit formării de complecși la creșterea conținutului de proteine în soluție. Complexarea a fost descrisă ca un proces de adsorbție a moleculelor de proteină pe lanțurile polizaharidei, proces favorizat de prezența cationilor de Na^+ .

Rezultatele experimentale obținute din studiile termodinamice au fost utilizate în proiectarea de noi biomateriale, pornind de la polimeri și proteine globulare.

II. Prepararea, caracterizarea și investigarea hidrogelurilor poroase pe bază de poli(alcool vinilic) și diferite biomolecule, în vederea aplicării lor ca pansamente pentru răni

Utilizând tehnica îngheț/dezgheț s-au preparat **hidrogeluri care conțin PVA și PULL** în diferite rapoarte, în prezența și absența unei argile model (Laponit RD) și s-au investigat principalele caracteristici structurale și reologice, cinetica proceselor de umflare și eliberarea principiilor active.

1. Introducerea PULL în rețeaua fizică de PVA îmbunătățește biocompatibilitatea hidrogelului și în același timp, determină creșterea mobilității și a difuzivității în zona amorfă, favorizând încorporarea și eliberarea substanței active.
2. Investigațiile reologice au evidențiat structurile de hidrogel prin intermediul legăturilor de hidrogen, care în urma ciclurilor repetate de îngheț/dezgheț au condus la formarea unor zone cristaline, ce acționează ca noduri ale rețelei tridimensionale.
3. Gradul de umflare în soluție salină (0,15 M NaCl) la 37°C este mai mare în absența argilei, când este favorizată eliberarea substanței active, în studiul de față sulfatul de neomicină (un antibiotic cu acțiune bactericidă și bacteriostatică).
4. Adăugarea de argilă nu este benefică, umflarea hidrogelului hibrid este diminuată la creșterea tăriei ionice a mediului și se eliberează mai puțină substanță activă din rețea.
5. Modelele dezvoltate de Peppas și colab. au permis o descriere a cineticii de eliberare a neomicinei.
6. Hidrogelurile fizice PVA/PULL pot fi considerate vehicule adecvate pentru eliberarea antibioticelor sau a altor substanțe active în aplicații de tip pansament pentru răni.

S-au proiectat **hidrogeluri hibride pe bază de PVA și PULL în prezență de proteine** (BSA și lizozimă), prin aplicarea ciclurilor de îngheț/dezgheț, care facilitează formarea unei rețele fizice de PVA. În plus, adăugarea de glutatión redus poate determina crearea de punți între macromoleculele de BSA.

1. Compoziția probei și etapele de pregătire au fost optimizate în vederea realizării structurilor de rețea, care sunt capabile să încorporeze moleculele de substanță activă și să le elibereze în fluidul fiziologic simulat (soluție tampon fosfat la pH = 7,4 și temperatura de 37°C).
2. Rețelele tridimensionale obținute au prezentat elasticitate ridicată și valori mari ale pragului de tensiune, conferind stabilitate și efecte de memorie a formei.

3. În cazul hidrogelurilor PULL/PVA/BSA, analiza SEM a evidențiat o structură de rețea cu pori interconectați.
4. Analiza prin spectroscopie în infraroșu a confirmat prezența de interacțiuni hidrofobe și legături de hidrogen (în special pentru conținut de BSA între 30% și 70%).
5. Cinetica de umflare este caracterizată printr-o difuzie de tip non-Fickian a moleculelor de solvent prin porii hidrogelurilor.
6. Eliberarea unei substanțe active (sulfatul de neomicină) este influențată de dimensiunea porilor hidrogelului și de tăria acestuia. O serie de modele cinetice au fost testate pentru o descriere adecvată a datelor experimentale privind cinetica de eliberare.

Astfel, aceste hidrogeluri hibride sunt potrivite pentru aplicații de tip pansament și ar putea fi matrici eficiente pentru încorporarea și administrarea de antibiotice.

S-au diversificat materialele hibride și s-au elaborat **hidrogeluri multicomponente pe bază de PVA, HPC și BSA**, în prezența glutatationului redus, pentru a fi utilizate ca vehicule pentru administrarea controlată a substanțelor active în aplicații de tip pansament.

1. Hidrogelurile fizice au fost obținute prin procedeul de îngheț/dezghet al soluțiilor ce conțin amestec de macromolecule în proporții bine definite, selectate în urma unui studiu reologic preliminar.
2. Analiza SEM a evidențiat o structură poroasă, cu pori interconectați.
3. La creșterea conținutului de BSA s-a observat o creștere a gradului de umflare a hidrogelurilor compozite, dar și a pierderii de masă.
4. Prin creșterea conținutului de BSA în matricea polimeră, cantitatea de substanță activă eliberată crește. Astfel, includerea unui cantități de până la 30% BSA în matricea polimeră determină schimbarea mecanismului de eliberare a sulfatului de neomicină de la difuzie de tip pseudo-Fickian (așa cum s-a observat pentru hidrogelul de HPC/PVA, în absența BSA) la difuzie anormală, de tip non-Fickian (în prezența BSA, până la 50%). Conținutul ridicat de BSA (50% - 90%) favorizează din nou o difuzie de tip pseudo-Fickian a principiului activ. În concluzie, eliberarea substanței active din aceste sisteme complexe este controlată de mai multe procese, precum difuzia, relaxarea și degradarea rețelelor.

Rezultatele obținute pentru sisteme multicomponente pe bază de poli(alcool vinilic) și diferite biomolecule au arătat că noile hidrogeluri dezvoltate prezintă sinergism și au capacitatea de a reține substanța activă și de a o elibera într-o manieră controlată.

Au fost concepute **rețele multicomponente proteină/polimer prin dublă reticulare:** gelifiere fizică a PVA și chimică a BSA.

1. Au fost obținute hidrogeluri hibride, stabile, care au combinat proprietățile mecanice superioare ale rețelelor fizice de PVA, obținute prin aplicarea de cicluri de îngheț/dezgeț, cu caracteristicile biologice (bioadezivitate, biocompatibilitate) ale BSA, proteina fiind reticulată chimic în prezență de genipin și glutatation redus.
2. Hidrogelurile robuste de PVA/BSA au prezentat stabilitate a formei și proprietăți mecanice comparabile cu ale țesuturilor vii, precum și capacitate de auto-vindecare.
3. S-a demonstrat că viscoelasticitatea hidrogelurilor hibride PVA/BSA poate fi reglată prin selectarea unei compoziții adecvate de polimer și proteină, precum și a procedurii de reticulare selectate în funcție de sistem.
4. Încorporarea BSA și a tripeptidei induce proprietăți adezive superioare hidrogelurilor de PVA, îmbunătățind compatibilitatea acestora cu organismele vii.

II. Elaborarea și caracterizarea unor geluri injectabile

Studiile efectuate au vizat formularea și caracterizarea unor geluri injectabile utilizând materiale termosensibile, care au o comportare de lichid la temperatură scăzută și se autoasamblează în structuri supramoleculare sau rețele tridimensionale la creșterea temperaturii sau în condițiile unor solicitări intense.

Hidrogeluri pe bază de PVA și poliuretan

S-au investigat amestecuri de poliuretan (PU) solubil în apă, polimer care are capacitatea de a forma geluri termoreversibile și poli(alcoolul vinilic), care formează hidrogeluri fizice prin aplicarea ciclurilor de îngheț/dezgeț.

1. Investigarea soluțiilor apoase de poli(alcool vinilic), poliuretan și a amestecurilor acestora a evidențiat o comportare complexă, cu formare de structuri supramoleculare induse fie prin forfecare, fie prin modificarea temperaturii.

2. Formarea agregatelor și a rețelei fizice asociative a fost evidențiată prin măsurători reologice și de difuzie dinamică a luminii. Interacțiunile intermoleculare sunt în competiție cu forțele de forfecare, influențând structura formată și, în consecință, comportarea reologică.
3. Elasticitatea ridicată și comportarea de auto-vindecare (capacitatea de a-și recupera structura și proprietățile după aplicarea unor deformații foarte mari) sugerează potențialul ridicat al unor astfel de materiale pentru aplicații în ingineria tisulară.

Au fost proiectate **hidrogeluri termosensibile pe bază de poliuretan și o serie de excipienți, ca alternative la formulările orale și injectabile pentru administrarea meloxicamului (MX).**

1. A fost analizată influența unor excipienți asupra stabilității formulărilor: HPC, PEO, PVP și a uleiului esențial de oregano.
2. Spectrele FTIR au evidențiat interacțiunile stabilite între diferite componente.
3. Eliberarea substanței active (MX) în mediul fiziologic a fost investigată la 37°C, procesul fiind dominat de fenomene anormale de transport.
4. Hidrogelurile pe bază de poliuretan în prezența unor cantități mici de PEG sau ulei esențial (cu activitate antimicrobiană) sunt potrivite ca geluri pentru încărcare cu MX și pot fi aplicate topic, în vederea reducerii inflamației locale și a durerii, pentru o perioadă cuprinsă între 24 de ore și 48 de ore.
5. Adăugarea de amestec PEO/PVP sau a unui conținut scăzut de HPC permite realizarea vehiculelor cu MX adecvate pentru aplicații de tip pansament, cu eliberarea substanțelor active antiinflamatorii.
6. Utilizarea agenților terapeutici naturali (uleiuri esențiale) ca substanțe active a determinat un sinergism în hidrogelurile pe bază de poliuretan încărcate cu MX și prezintă un potențial ridicat pentru dezvoltarea de noi sisteme antimicrobiene care să încorporeze și să elibereze MX. În funcție de compoziția lor, aceste uleiuri pot modifica într-o măsură mai mare sau mai mică comportarea viscoelastică a formulărilor, tăria hidrogelurilor și eliberarea MX.
7. S-a selectat o variantă optimizată de hidrogel care prezintă caracteristici reologice și cinetice de eliberare a meloxicamului similare cu ale unui gel comercial.
8. Hidrogelurile proiectate prezintă atât caracter hidrofil, cât și hidrofob, și prezintă interes pentru aplicații în domeniul farmaceutic și biomedical.

Ca **perspectivă generală**, direcțiile de cercetare dezvoltate în această lucrare pot fi aprofundate diversificând seria de excipienți în funcție de specificul fiecărei formulări farmaceutice și efectuarea de teste farmacocinetice și antiinflamatorii. De asemenea, va fi necesară testarea biocompatibilității pentru variantele optimizate.

Următoarele aspecte ar prezenta un potențial interes pentru dezvoltări științifice ulterioare:

1. Testarea proprietăților antiinflamatoare ale hidrogelurilor încărcate cu meloxicam (variantă optimizată comparativ cu gelul comercial);
2. Analiza efectului terapeutic datorat sinergiei substanței active cu uleiul esențial;
3. Studii privind proprietățile biologice și îmbunătățirea biocompatibilității hidrogelurilor pe bază de poliuretan și a hidrogelurilor hibride pe bază de polimeri și proteine, ca sisteme alternative la formele comerciale de dozare ale substanțelor antiinflamatoare nesteroidiene;
4. Testarea hidrogelurilor poroase care au fost elaborate și caracterizate în această lucrare pentru eliberarea altor substanțe active cu proprietăți antioxidante, antimicrobiene sau antiinflamatoare.

Lista publicațiilor rezultate în urma cercetării științifice din programul de studii doctorale

Rezultatele originale obținute și prezentate în cadrul acestei teze de doctorat au făcut subiectul a 11 articole științifice publicate în reviste indexate ISI (Web of Knowledge, cu factor de impact) 3 articole publicate în extenso în volume ale manifestărilor științifice, 4 comunicări orale și 1 poster. Lucrările publicate au **FI_{cumulat} = 51,9** și au fost citate de **66** ori, excluzând autocitările.

- Lucrări publicate în reviste cotate ISI (Web of Science cu factor de impact)

1. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Associative interactions between pullulan and negatively charged bovine serum albumin in physiological saline solutions, *Carbohydrate Polymers*, 246, 116630 (2020) <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116630>. (FI₂₀₂₃ = 10,7) (Q1)
2. **Plugariu I.A.**, Bercea M., The viscosity of globular proteins in the presence of an “inert” macromolecular cosolute, *Journal of Molecular Liquids*, 337, 116382 (2021) <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116382>. (FI₂₀₂₃ = 5,3) (Q1)
3. Bercea M., Grădinaru L.-M., Morariu S., **Plugariu I.-A.**, Grădinaru, R.V. Tailoring the properties of PVA/HPC/BSA hydrogels for wound dressing applications. *Reactive and Functional Polymers*, 170, 105094 (2022) <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105094>. (IF₂₀₂₃ = 4,5) (Q1)
4. Bercea M., Constantin M., **Plugariu I.-A.**, Daraba M.O., Ichim D.L., Thermosensitive gels of pullulan and Poloxamer 407 as potential injectable biomaterials. *Journal of Molecular Liquids*, 362, 119717 (2022) <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119717>. (FI₂₀₂₃ = 5,3) (Q1)

5. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Grădinaru L.M., Avadanei M., Doroftei F. Grădinaru V.R. Hybrid hydrogels for neomycin delivery: Synergistic effects of natural/synthetic polymers and proteins. *Polymers* 15(3), 630 (2023). <https://doi.org/10.3390/polym15030630>. (FI₂₀₂₃ = 4,7) (Q1)
6. **Plugariu I.-A.**, Bercea M., Grădinaru L.M., Rusu D., Lupu A., Poly(vinyl alcohol)/pullulan composite hydrogels as a potential platform for wound dressing applications. *Gels* 9(7), 580 (2023). <https://doi.org/10.3390/gels9070580>. (FI₂₀₂₃ = 5) (Q1)
7. **Plugariu I.-A.**, Grădinaru L.M., Avadanei M., Roșca I., Niță L.E., Maxim C., Bercea M., Thermosensitive polyurethane-based hydrogels as potential vehicles for meloxicam delivery. *Pharmaceuticals* 16(11), 1510 (2023). <https://doi.org/10.3390/ph16111510>. (FI₂₀₂₃ = 4,3) (Q1)
8. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Dinu M.V., Pelin I.M., Lupu A., Bele A., Grădinaru V.R. PVA/BSA hybrid hydrogels with tunable viscoelastic properties. *Polymers* 15(23), 4611 (2023). <https://doi.org/10.3390/polym15234611>. (FI₂₀₂₃ = 4,7) (Q1)
9. Bercea M., Grădinaru L.M., **Plugariu I.A.**, Mândru M., Țigău D.L., Viscoelastic behaviour of self-assembling polyurethane and poly(vinyl alcohol), *Polymer International*, 69 (2), 149-155 (2020) <https://doi.org/10.1002/pi.5928>. (FI₂₀₂₃ = 2,9) (Q2)
10. Bercea M., Grădinaru L.M., Barbalată-Mândru M., Vlad S., Niță L.E., **Plugariu I.A.**, Albulescu R., Shear flow of associative polymers in aqueous solutions, *Journal of Molecular Structure*, 1238, 130441 (2021) <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130441>. (FI₂₀₂₃ = 4) (Q2)
11. Bercea M., Morariu S., **Plugariu I.-A.**, Bărâla D., Shear flow of bovine serum albumin solutions, *Studia Universitatis Babeș-Bolyai Chimia*, LXIV, 3, 121-128 (2019) <https://doi.org/10.24193/subbchem.2019.3.10>. (FI₂₀₂₃ = 0,5) (Q4)

- Lucrări publicate în volume ale conferințelor (ISI web of Knowledge)

1. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Macromolecular crowding in solutions of bovine serum albumin and neutral polymers, The 9th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2021, Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iași, November 18-19, 2021. <https://doi.org/10.3390/10.1109/EHB52898.2021.9657629>.
2. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Niță L.E., Morariu S., Grădinaru R.V., On the interactions between bovine serum albumin and reduced glutathione in solution, The 9th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2021, Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iași, November 18-19, 2021. <https://doi.org/10.1109/EHB52898.2021.9657616>.

- Lucrări publicate în volume ale conferințelor (neindexate ISI web of Knowledge)

3. **Plugariu I.-A.**, Bercea M. Viscosity of bovine serum albumin solutions in the presence of neutral polymers; Proceedings of the International Conference on Rheology, Understanding the Viscoelastic Behavior of Materials – Progress and Challenges, May, 2022, pp. B20-B24.

- Comunicări orale la conferințe naționale sau internaționale

1. **Plugariu I.-A.**, Bercea M., Morariu S., Bărâla D. Rheological behaviour of PVA hydrogels suitable for cosmetic applications; 13th International Symposium on Cosmetic and Flavor Products, Iasi, Romania, June 4-7, 2019
2. **Plugariu I.-A.**, Bercea M., Morariu S. Viscositatea soluțiilor de polimeri în prezența proteinelor, Zilele Academice Iesene, Iasi, Romania, 2-4 octombrie, 2019
3. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Macromolecular crowding in solutions of bovine serum albumin and neutral polymers, The 9th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2021, Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iași, Nov. 18-19, 2021.
4. Bercea M., **Plugariu I.-A.**, Nita L.E., Morariu S., Gradinaru R.V. On the Interactions Between Bovine Serum Albumin and Reduced Glutathione in Solution, The 9th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering - EHB 2021, Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iași, November 18-19, 2021.

- Postere

1. **Plugariu I.-A.**, Bercea M. Viscosity of bovine serum albumin solutions in presence of neutral polymers; Proceedings of the International Conference on Rheology, Understanding the Viscoelastic Behavior of Materials – Progress and Challenges, May, 2022 (poster)

- Proiecte de cercetare

Membru în echipa de lucru a unui proiect de cercetare:

Bioinspired Peptide-Based Scaffold Assemblies , PN-III-P2-2.1-PED-2019-2484,

PED 494/2020, Coordonator: Universitatea „Alexandru Ioan Cuza” din Iași,

Partener 1: Institutul de Chimie Macromoleculară “Petru Poni” Iași

Bibliografie selectivă

83. Fullerton, G.D.; Kanal, K. M.; Cameron, I.L., 2006. *Osmotically unresponsive water fraction on proteins: Non-ideal osmotic pressure of bovine serum albumin as a function of pH and salt concentration*. Cell Biology International, 30(1), pp.86–92.

172. Bouyahya, A.; Abrini, J.; Dakka, N.; Bakri, Y., 2019. *Essential oils of Origanum Compactum increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorumsensing phenotype in bacteria*, Journal of Pharmaceutical Analysis, 9, pp. 301–311.

199. **Plugariu, I.A.**; Grădinaru, L.M.; Avadanei, M.; Rosca, I.; Nita, L.E.; Maxim, C.; Bercea, M., 2023. *Thermosensitive polyurethane-based hydrogels as potential vehicles for meloxicam delivery*, Pharmaceuticals, 16(11), 1510.

224. Wolf, B.A., 2015. *Viscosity of polymer solutions over the full range of composition: A thermodynamically inspired two-parameter approach*, Industrial Engineering Chemistry Research, 54, pp. 4672–4680.
233. **Plugariu, I.A.**, Bercea, M., 2021. *The viscosity of globular proteins in the presence of an “inert” macromolecular cosolute*, Journal of Molecular Liquids, 337, 116382.
236. Wolf, B.A., 2019. *Extension of the Concept of Intrinsic Viscosities to Arbitrary Polymer Concentration: From $[\eta]$ via $\{\eta\}$ to Intrinsic Bulkiness*, Macromolecules, 52, pp. 3231–3236.
240. Chi, E.Y.; Krishnan, S.; Randolph, T.W.; Carpenter, J.F., 2003. *Physical stability of proteins in aqueous solution: mechanism and driving forces in nonnative protein aggregation*, Pharmaceutical Research, 20, pp. 1325–1336.
254. Bercea, M.; **Plugariu, I.A.**, 2020. *Associative interactions between pullulan and negatively charged bovine serum albumin in physiological saline solutions*, Carbohydrate Polymers, 246, pp. 116630.
259. Sweeney, T.E.; Beuchat, C.A., 1993. *Limitations of methods of osmometry: Measuring the osmolality of biological fluids*. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 264(3), pp. 469–480.
267. Bercea, M.; **Plugariu, I.-A.**, 2021. *Macromolecular crowding in solutions of bovine serum albumin and neutral polymers*, Proceedings of the 9th IEEE International Conference on E-Health and Bioengineering – EHB 2021, Iași, Romania.
287. **Plugariu, I.-A.**; Bercea, M.; Gradinaru, L.M.; Rusu, D.; Lupu, A., 2023. *Poly(vinyl alcohol)/pullulan composite hydrogels as a potential platform for wound dressing applications*, Gels, 9(7), 580.
293. Korsmeyer, R.W.; Gury, R.; Doelker, E.; Buri, P.; Peppas, N.A., 1983. *Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers*, International Journal of Pharmaceutics, 15, pp. 25–35.
294. Peppas, N.A.; Sahlin, J.J., 1989. *A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation*, International Journal of Pharmaceutics, 57, pp.169–172.
301. Bercea, M.; **Plugariu, I.-A.**; Gradinaru, L.M.; Avadanei, M.; Doroftei, F.; Gradinaru, V.R., 2023. *Hybrid hydrogels for neomycin delivery: Synergistic effects of natural/synthetic polymers and proteins*, Polymers, 15(3), 630.
304. Bercea, M.; Gradinaru, L.M.; Morariu, S.; **Plugariu, I.A.**; Gradinaru, R., 2022. *Tailoring the properties of PVA/HPC/BSA hydrogels for wound dressing applications*, Reactive and Functional Polymers, 170, pp. 105094.

339. Bercea, M.; **Plugariu, I.-A.**; Dinu, M.V.; Pelin, I.M.; Lupu, A.; Bele, A.; Gradinaru, V.R., 2023. *Poly(vinyl alcohol)/bovine serum albumin hybrid hydrogels with tunable mechanical properties*, *Polymers*, 15(23), 4611.
342. Ji, D.; Kim, J., 2021. *Recent strategies for strengthening and stiffening tough hydrogels*, *Advanced NanoBiomed Research*, 1(8), 2100026.
343. Li, X.; Liu, Y.; Liu, S.; Li-Jessen, N.Y.K.; Haglund, L.; Huang, B.; Li, J., 2024. *Designing regenerative bioadhesives for tissue repair and regeneration*, *Advanced Therapeutics*, 7(1), 2300139.
366. Bercea, M.; Gradinaru, L.M.; Barbalata-Mandru, M.; Vlad, S.; Nita, L.E.; **Plugariu, I.A.**; Albulescu, R., 2021. *Shear flow of associative polymers in aqueous solutions*, *Journal of Molecular Structure*, 1238, 130441.
368. Bercea, M.; Gradinaru, L.M.; **Plugariu, I.A.**; Mandru, M.; Tigau, D.L., 2020. *Viscoelastic behaviour of self-assembling polyurethane and poly(vinyl alcohol)*, *Polymer International*, 69, pp. 149–155.
393. Deshmukh, R., 2023. *Rheumatoid arthritis: Pathophysiology, current therapeutic strategies and recent advances in targeted drug delivery system*, *Materials Today Communications*, 35, 105877.
394. Luger, P.; Daneck, K.; Engel, W.; Trummlitz, G.; Wagner K., 1996. *Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(3), pp. 175–187.
395. Tai, F.W.D.; McAlindon, M.E. 2021. *Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract*. *Clinical Medicine*, 21(2), pp. 131–134.
396. Gerwin, N.; Hops, C.; Lucke, A., 2006. *Intraarticular drug delivery in osteoarthritis*, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58, pp. 226–242.
401. Mazzenga, G. C.; Berner, B., 1991. *The transdermal delivery of zwitterionic drugs I: the solubility of zwitterion salts*, *Journal of Controlled Release*, 16(1-2), pp. 77–88.
430. Gupta, S.K.; Bansal, P.; Bhardwaj, R.K.; Jaiswal, J.; Velpandian, T., 2002. *Comparison of analgesic and anti-inflammatory activity of meloxicam gel with diclofenac and piroxicam gels in animal models: Pharmacokinetic parameters after topical application*, *Skin Pharmacology and Physiology*, 15, pp. 105–111.